

12

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: 81810299.8

51 Int. Cl.<sup>2</sup>: **C 07 D 417/04**, C 07 D 417/14,  
A 61 K 31/44, C 12 P 17/16  
// (C07D417/04, 213/65, 277/12)

22 Anmeldetag: 22.07.81

30 Priorität: 28.07.80 CH 5755/80  
05.08.80 CH 6825/80

71 Anmelder: CIBA-GEIGY AG, Patentabteilung Postfach,  
CH-4002 Basel (CH)

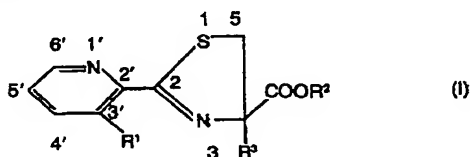
43 Veröffentlichungstag der Anmeldung: 03.02.82  
Patentblatt 82/5

64 Benannte Vertragsstaaten: AT BE CH DE FR IT LI LU NL  
SE

72 Erfinder: Zähler, Hans, Prof. Dr., Im Hopfengarten 13,  
D-7400 Tübingen (DE)  
Erfinder: Naegeli, Hans-Ulrich, Dr., Pestalozzistrasse 33,  
CH-4132 Muttenz (CH)  
Erfinder: Peter, Heinrich, Dr., Bündtenweg 69,  
CH-4102 Binningen (CH)

54 Thiazolidinderivate und Verfahren zu ihrer Herstellung.

57 Die Erfindung betrifft insbesondere 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure-Derivate der Formel (I) und Salze sowie bestimmte Metallkomplexe dieser Verbindungen, Verfahren zu deren Herstellung, solche Verbindungen enthaltende pharmazeutische Mittel und die Verwendung dieser Verbindungen.



In der Formel stehen R¹ für freies, verethertes oder verestertes Hydroxy, R² für Wasserstoff oder einen aliphatischen, carbocyclischen oder carbocyclisch-aliphatischen Rest mit 1-12 C-Atomen und R³ für Wasserstoff oder einen unsubstituierten aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen.

Die Verbindungen der Formel (I) können z.B. zum Entzug von Schwermetallen aus dem Organismus, von Warmblütern verwendet werden und/oder besitzen antibiotische Wirkung.

**EP 0 045 281 A1**

ACTORUM AG

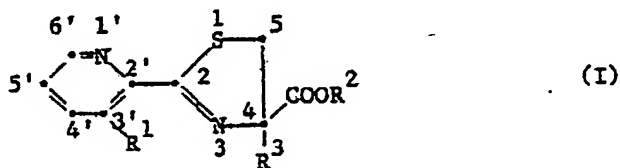
**BEST AVAILABLE COPY**

- 4-12986/1+2/+

# Thiazolinderivate und Verfahren zu ihrer Herstellung

Die Erfindung betrifft neue Derivate der 2-(Pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure, Verfahren zu deren Herstellung, pharmazeutische Präparate, die solche Verbindungen enthalten, und die Verwendung dieser Derivate.

Die Erfindung betrifft insbesondere 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure-Derivate der Formel (I)



in racemischer oder optisch aktiver Form, worin  $R^1$  für freies, verethertes oder verestertes Hydroxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder einen aliphatischen, carbocyclischen oder carbocyclisch-aliphatischen Rest mit 1-12 C-Atomen und  $R^3$  für Wasserstoff oder einen unsubstituierten aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen stehen, und Salze dieser Verbindungen oder Metallionkomplexe solcher Verbindungen, worin der Rest  $COOR^2$  eine freie Carboxylgruppe bedeutet, deren acides Proton gegebenenfalls abgespalten ist, Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen, solche Verbindungen enthaltende pharmazeutische Mittel und die Verwendung dieser Verbindungen.

Verethertes Hydroxy  $R^1$  steht in erster Linie für durch Veretherung geschütztes Hydroxy und/oder bedeutet gegebenenfalls substituiertes aliphatisches, carbocyclisches oder carbocyclisch-alipha-

tisches Hydrocarbyloxy oder Heterocyclyloxy mit 1-12 C-Atomen. Ein aliphatischer Hydrocarbyloxyrest  $R^1$  hat in erster Linie 1-12, vorzugsweise 1-7 und insbesondere 1-4 C-Atome und steht vornehmlich für entsprechendes unsubstituiertes oder substituiertes Alkoxy, in allererster Linie für unsubstituiertes Alkoxy, z.B. Methoxy.

Der Kohlenwasserstoffteil eines carbocyclischen Hydrocarbyloxyrestes  $R^1$  ist in erster Linie ein cycloaliphatischer Rest mit 3-8, insbesondere 5 oder 6, Ringgliedern, vor allem ein solcher unsubstituierter oder substituierter Cycloalkylrest, insbesondere ein unsubstituierter oder durch Niederalkyl substituierter Cycloalkylrest, oder ein aromatischer mono- oder bicyclischer Rest mit 6 beziehungsweise 10 Ring-C-Atomen, z.B. ein Phenylrest, in allererster Linie Phenyl. Carbocyclisch-aliphatisches Hydrocarbyloxy  $R^1$  ist in erster Linie wie oben definiertes aliphatisches Hydrocarbyloxy, das durch mindestens einen wie oben definierten carbocyclischen Rest substituiert ist.

Heterocyclyl in einem Heterocyclyloxyrest  $R^1$  steht vorzugsweise für unsubstituiertes oder substituiertes, gesättigtes oder ungesättigtes monocyclisches fünf- oder sechsgliedriges Heterocyclyl mit einem Stickstoff-, Sauerstoff- oder Schwefelatom als Ringglied, insbesondere für gesättigtes Heterocyclyl, vor allem für gesättigtes und unsubstituiertes Heterocyclyl, dessen freie Valenz sich in Nachbarschaft zum Heteroatom befindet, z.B. 2-Tetrahydropyranyl.

Verestertes Hydroxy  $R^1$  kann sich von einer organischen oder anorganischen Säure ableiten.

Von den anorganischen Säuren sind z.B. Schwefel- und Phosphorsäuren zu nennen.

Verestertes Hydroxy  $R^1$ , das sich von einer organischen Säure ableitet, ist vor allem Acyloxy mit 1-12 C-Atomen oder Sulfonyloxy.

Acyloxy kann Formyloxy bedeuten, ist aber vorzugsweise gegebenenfalls substituiertes Hydrocarbylcarbonyloxy oder Hydrocarbyloxycarbonyloxy. Darin bedeutet Hydrocarbyl einen aliphatischen Rest mit 1-11, in erster Linie 1-6, vor allem 1-3 C-Atomen; einen carbocyclischen Rest, d.h. einen cycloaliphatischen Rest mit 3-8, insbesondere 5 oder 6, Ringgliedern, oder einen mono- oder bicyclischen aromatischen Rest mit 6 beziehungsweise 10 Ringgliedern, oder einen entsprechenden carbocyclisch-aliphatischen Rest. Bei den obengenannten cycloaliphatischen beziehungsweise aromatischen Resten handelt es sich vorzugsweise um unsubstituierte oder substituierte Cycloalkylreste, insbesondere unsubstituierte oder durch Niederalkyl substituierte Cycloalkylreste beziehungsweise um Phenylreste, z.B. Phenyl.

Sulfonyloxy ist insbesondere aromatisches, vornehmlich monocyclisches aromatisches, Sulfonyloxy mit 1-12 Kohlenstoffatomen, z.B. Toluolsulfonyloxy, oder aliphatisches Sulfonyloxy mit 1-12, vornehmlich 1-7, in erster Linie 1-4 C-Atomen, insbesondere unsubstituiertes oder halogeniertes Alkylsulfonyloxy.

Verestertes Hydroxy  $R^1$  kann insbesondere auch durch Veresterung geschütztes Hydroxy bedeuten.

Ein aliphatischer, carboxyclischer oder carbocyclisch-aliphatischer Rest  $R^2$  steht bevorzugterweise für eine Carboxylschutzgruppe und/oder hat eine der folgenden Bedeutungen.

Ein aliphatischer Rest  $R^2$  hat in erster Linie 1-12, vorzugsweise 1-7 und insbesondere 1-4 C-Atome und steht vornehmlich für entsprechendes unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl, in allererster Linie für unsubstituiertes Alkyl, z.B. Methyl.

Ein carbocyclischer Rest  $R^2$  ist in erster Linie ein cycloaliphatischer Rest mit 3-8, insbesondere 5 oder 6, Ringgliedern, vor allem ein solcher unsubstituierter oder substituierter Cycloalkylrest,

insbesondere ein unsubstituierter oder durch Niederalkyl substituierter Cycloalkylrest, oder ein aromatischer mono- oder bicyclischer Rest mit 6 beziehungsweise 10 Ring-C-Atomen, z.B. ein Phenylrest, wie z.B. in allererster Linie Phenyl.

Ein carbocyclisch-aliphatischer Rest  $R^2$  ist in erster Linie ein wie oben definierter aliphatischer Rest, der durch mindestens einen wie oben definierten carbocyclischen Rest substituiert ist, z.B. Benzyl.

Ein unsubstituierter aliphatischer Rest  $R^3$  ist vor allem Niederalkyl, in allererster Linie Methyl, daneben auch über ein gesättigtes C-Atom gebundenes Niederalkenyl.

Die vor- und/oder nachstehend verwendeten Allgemeindefinitionen haben im Rahmen der vorliegenden Beschreibung vorzugsweise die folgenden Bedeutungen:

"Nieder-" umschreibt einen Rest mit 1-7 C-Atomen. Niederalkyl ist z.B. Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl oder tert.-Butyl, ferner n-Pentyl, Neopentyl, n-Hexyl oder n-Heptyl. Niederalkenyl ist z.B. Allyl oder 2-Butenyl. Cycloalkyl enthält vorzugsweise 3-8, in erster Linie 5 oder 6 Ringglieder und ist z.B. Cyclopentyl oder Cyclohexyl. Phenylniederalkyl ist z.B. Benzyl, 1- oder 2-Phenylethyl oder 3-Phenylpropyl. Halogen ist insbesondere Brom, kann jedoch auch für Chlor oder Jod, ferner für Fluor stehen. Niederalkoxy ist z.B. Methoxy, ferner Ethoxy, n-Propoxy, Isopropoxy, n-Butoxy, Isobutoxy oder tert.Butoxy. Niederalkanoyloxy ist z.B. Acetoxy oder Propionyloxy. Niederalkoxycarbonyl ist z.B. Methoxycarbonyl oder Ethoxycarbonyl. Niederalkoxycarbonyloxy ist z.B. Methoxycarbonyloxy oder Ethoxycarbonyloxy. Fünf- oder sechsgliedriges Heterocyclyl mit einem Sauerstoff-, Stickstoff- oder Schwefelatom als Ringglied ist z.B. Tetrahydropyranyl, Pyridyl, Thienyl oder Furyl.

Substituenten z.B. von Aromaten sind gegebenenfalls substituiertes Niederalkyl oder gegebenenfalls, z.B. durch Niederalkyl, Nitro-, Niederalkoxy und /oder Halogen, substituiertes Phenyl oder funktionelle Gruppen, z.B. basische Gruppen, wie eine gegebenenfalls substituierte Aminogruppe, oder saure Gruppen, wie gegebenenfalls funktionell abgewandeltes, z.B. verestertes Carboxy, z.B. Carboxy oder Niederalkoxycarbonyl, oder gegebenenfalls veretherstes, verestertes oder geschütztes Hydroxy oder Oxo.

Monocyclisches aromatisches Sulfonyloxy ist z.B. p-Toluolsulfonyloxy oder Benzolsulfonyloxy.

Niederalkylphatisches Sulfonyloxy ist z.B. Methansulfonyloxy.

Schutzgruppen, beispielsweise für die 3'-Hydroxy-Gruppe, sowie ihre Einführung und Abspaltung sind beispielsweise beschrieben in "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London, New York 1973, ferner in "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4. Auflage, Bd. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Charakteristisch für Schutzgruppen ist, dass sie leicht, d.h. ohne dass unerwünschte Nebenreaktionen stattfinden, z.B. solvolytisch-, reduktiv-, photolytisch oder auch unter physiologischen Bedingungen abspaltbar sind.

Hydroxyschutzgruppen sind z.B. Acylreste, wie gegebenenfalls, z.B. durch Halogen, substituiertes Niederalkanoyl, wie 2,2-Dichloracetyl, oder Acylreste von Kohlensäurehalbestern, insbesondere tert.-Butyloxycarbonyl, gegebenenfalls substituiertes Benzoyloxycarbonyl, z.B. 4-Nitro-benzoyloxycarbonyl, oder Diphenylmethoxycarbonyl, oder 2-Halogen-niederalkoxycarbonyl, wie 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl, ferner Trityl oder Formyl, oder organische Silyl- oder Stannylreste, ferner leicht abspaltbare verethernde Gruppen, wie tert.-Niederalkyl, z.B. tert.-Butyl, 2-oxa- oder 2-thia-aliphatische oder -cycloaliphatische Kohlenwasserstoffreste, in erster Linie 1-Niederalkoxyniederalkyl oder 1-Niederalkylthio-niederalkyl, z.B. Methoxymethyl, 1-Methoxyethyl,

1-Ethoxy-ethyl, 1-Methylthiomethyl, 1-Methylthioethyl oder 1-Ethylthioethyl, oder 2-Oxa- oder 2-Thiacycloalkyl mit 5-6 Ringatomen, z.B. .... Tetrahydrofuryl oder 2-Tetrahydropyranyl oder entsprechende Thiaanaloge, sowie gegebenenfalls substituiertes 1-Phenylniederalkyl, wie gegebenenfalls substituiertes Benzyl oder Diphenylmethyl, wobei als Substituenten der Phenylreste z.B. Halogen, wie Chlor, Niederalkoxy, wie Methoxy und/oder Nitro in Frage kommen.

Carboxylgruppen sind üblicherweise in veresterter Form geschützt, wobei solche Estergruppierungen unter schonenden Bedingungen leicht spaltbar sind. In dieser Art geschützte Carboxylgruppen enthalten als veresternde Gruppen, wie den Rest  $R^2$ , in erster Linie in 1-Stellung verzweigte oder in 1- oder 2-Stellung geeignet substituierte Niederalkylgruppen. Bevorzugte, in veresterter Form vorliegende Carboxylgruppen sind u.a. tert.-Niederalkoxycarbonyl, z.B. tert.-Butyloxycarbonyl, Arylmethoxycarbonyl, mit einem oder zwei Arylresten, wobei diese gegebenenfalls z.B. durch Niederalkyl, wie tert.-Niederalkyl, z.B. tert.-Butyl, Niederalkoxy, wie Methoxy, Hydroxy, Halogen, z.B. Chlor, und/oder Nitro, mono- oder polysubstituierte Phenylreste darstellen, wie gegebenenfalls, z.B. wie oben erwähnt, substituiertes Benzyloxycarbonyl, z.B. 4-Nitro-benzyloxycarbonyl oder 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, oder gegebenenfalls, z.B. wie oben erwähnt, substituiertes Diphenylmethoxycarbonyl, z.B. Diphenylmethoxycarbonyl oder Di-(4-methoxyphenyl)-methoxycarbonyl, 1-Niederalkoxyniederalkoxycarbonyl, wie Methoxymethoxycarbonyl, 1-Methoxyethoxycarbonyl oder 1-Ethoxymethoxycarbonyl, 1-Niederalkylthioniederalkoxycarbonyl, wie 1-Methylthiomethoxycarbonyl oder 1-Ethylthioethoxycarbonyl, Aroylmethoxycarbonyl, worin die Aroylgruppe gegebenenfalls, z.B. durch Halogen, wie Brom, substituiertes Benzoyl darstellt, z.B. Phenacyloxycarbonyl, 2-Halogenniederalkoxycarbonyl, z.B. 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl, 2-Bromethoxycarbonyl oder 2-Jodethoxycarbonyl, oder 2-(trisubstituiertes Silyl)-ethoxycarbonyl, worin die Substituenten unabhängig voneinander je einen gegebenenfalls substituierten, z.B. durch Niederalkyl, Niederalkoxy, Aryl, Halogen, und/oder Nitro substi-

tuierten, aliphatischen, araliphatischen, cycloaliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffrest, wie entsprechendes, gegebenenfalls substituiertes Niederalkyl, Phenylniederalkyl, Cycloalkyl oder Phenyl, bedeuten, z.B. 2-Triniederalkylsilylethoxycarbonyl, wie 2-Trimethylsilylethoxycarbonyl oder 2-(Di-n-butyl-methyl-silyl)-ethoxycarbonyl, oder 2-Triarylsilylethoxycarbonyl, wie 2-Triphenylsilylethoxycarbonyl.

Die oben erwähnten organischen Silyl- oder Stannylreste enthalten vorzugsweise Niederalkyl, insbesondere Methyl, als Substituenten der Silizium- oder Zinn-Atome. Entsprechende Silyl- oder Stannylgruppen sind in erster Linie Triniederalkylsilyl, insbesondere Trimethylsilyl, ferner Dimethyl-tert.-butyl-silyl, oder entsprechend substituiertes Stannyl, z.B. Tri-n-butylstannyl.

Bevorzugte geschützte Carboxylgruppen sind tert.-Niederalkoxycarbonyl, wie tert.-Butoxycarbonyl, und in erster Linie gegebenenfalls, z.B. wie oben erwähnt, substituiertes Benzyloxycarbonyl, wie 4-Nitro-benzyloxycarbonyl, oder Diphenylmethoxycarbonyl, vor allem 2-(Trimethylsilyl)-ethoxycarbonyl.

Die Salze der erfindungsgemässen Verbindungen sind in erster Linie pharmazeutisch verwendbare, nicht-toxische Salze, wie diejenigen von Verbindungen der Formel (I) mit sauren Gruppen, z.B. mit einer freien Carboxylgruppe. Solche Salze sind in erster Linie innere Salze, wobei eine im Molekül vorhandene basische Gruppe, z.B. ein basisches Stickstoffatom, z.B. im Pyridinring oder in einer gegebenenfalls vorhandenen freien Aminogruppe, durch ein aus einem Molekül der Formel (I) stammendes Wasserstoffion protoniert ist, daneben auch Metall- oder Ammoniumsalze, wie Alkalimetall- oder Erdalkalimetall-, z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calciumsalze, sowie Ammoniumsalze mit Ammoniak oder geeigneten organischen Aminen, wobei in erster Linie aliphatische, cycloaliphatische, cycloaliphatisch-aliphatische oder araliphatische primäre, sekundäre oder tertiäre Mono-, Di- oder Polyamine, sowie heterocyclische Basen für die Salzbildung in Frage kommen, wie



Niederalkylamine, z.B. Triethylamin, Hydroxyniederalkylamine, z.B. 2-Hydroxyethylamin, Bis-(2-hydroxyethyl)-amin oder Tris-(2-hydroxyethyl)-amin, basische aliphatische Ester von Carbonsäuren, z.B. 4-Aminobenzoessäure-2-diethylaminoethylester, Niederalkyleuamine, z.B. 1-Ethyl-piperidin, Cycloalkylamine, z.B. Dicyclohexylamin, oder Benzylamine, z.B. N,N'-Dibenzyl-ethylendiamin, ferner Basen vom Pyridintyp, z.B. Pyridin, Collidin oder Chinolin. Die Verbindungen der Formel (I) können auch intermolekulare (im Gegensatz zu den intramolekularen, d.h. zwitterionischen) Säureadditionssalze, z.B. mit anorganischen Säuren, wie Salzsäure, Schwefelsäure oder Phosphorsäure, oder mit geeigneten organischen Carbon- oder Sulfonsäuren, z.B. Trifluoressigsäure, sowie mit Aminosäuren, wie Arginin und Lysin, bilden. Bei Anwesenheit von mehreren sauren oder basischen Gruppen können Mono- oder Polysalze gebildet werden. Bei Verbindungen der Formel (I) mit einer sauren Gruppe, z.B. einer freien Carboxylgruppe, kann auch ein Teil des Moleküls als inneres Salz und ein anderer Teil als normales Salz vorliegen.

Zur Isolierung oder Reinigung können auch pharmazeutisch ungeeignete Salze Verwendung finden. Zur therapeutischen Anwendung gelangen nur die pharmazeutisch verwendbaren, nicht toxischen Salze, die deshalb bevorzugt werden.

Die Verbindungen der Formel I mit freier Carboxylgruppe, wobei das Proton der Carboxylgruppe abgespalten sein kann, vermögen mit Metallionen, wie Schwermetallionen, stabile Komplexe zu bilden. Unter den Schwermetallionen sind insbesondere diejenigen mit der Oxidationsstufe  $3^+$  zu nennen, wie  $Al^{3+}$  oder  $Cr^{3+}$ , in allererster Linie aber  $Fe^{3+}$ .

Zugabe der 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure zu einem Eisen(III)-Ethylendiamintetraessigsäure-dinatrium-Salz-Komplex ( $\log K = 21,6$ ) führt zu einer Umkomplexierung, aus deren polarographisch

verfolgtem Verlauf sich der dekadische Logarithmus  $\log K$  der Komplexbildungskonstanten  $K$  des 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure-Eisen(III)-Komplexes zu 32,7 und seine Ligandenzahl  $p$  zu 3 ergibt.

Die Substanzen der Formel (I) besitzen pharmakologisch wertvolle Eigenschaften. Insbesondere sind die Verbindungen der Formel (I) antibakteriell wirksam und können daher in Form pharmazeutischer Präparate, z.B. zur Behandlung von Infektionen verwendet werden.

Eine 1%ige Lösung der 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure in Wasser wurde im Agar-Diffusionstest gegen die folgenden Bakterien auf antibiotische Wirkung untersucht, wobei die in Klammern angegebenen Hemmzonen [mm] beobachtet wurden: *Sarcina lutea* (13), *Bac. subtilis* (auf synth. Medium, 25), *E. coli*, supersensitiv  $EC_2$  (18), *Proteus mirabilis* (13), *Proteus vulgaris* (15) und *Xanthomonas oryzae* (22).

Aufgrund ihrer Eigenschaften mit Schwermetallionen, besonders mit solchen in der Oxidationsstufe  $3+$ , wie  $Al^{3+}$  oder  $Cr^{3+}$ , vor allem aber mit  $Fe^{3+}$ , stabile Komplexe zu bilden, verhindern die Verbindungen der Formel (I) mit freier 4-Carboxy-Gruppe, z.B. 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-carbonsäure, z.B. die Ablagerung eisenhaltiger Pigmente im Gewebe bzw. sie bewirken in Fällen von Eisenablagerung im Organismus eine Ausscheidung des Eisens, z.B. bei Hämochromatose und Häm siderose sowie auch bei Lebercirrhose. Sie können auch zur Ausscheidung anderer Schwermetalle, z.B. der obengenannten oder von Kupfer, aus dem Organismus verwendet werden. Beispielsweise bewirkt die subcutane Applikation von 10 mg/kg 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure bei der Ratte eine im Urin nachweisbare Ausscheidung von Ferrithiocin. Die therapeutische Dosis der letztgenannten Substanz als Eisenentzugsmittel beträgt bei Warmblütern von etwa 70 kg Körpergewicht, z.B. beim Menschen, 100-1000 mg,

insbesondere 300-700 mg, z.B. 500 mg, täglich. Vorzugsweise appliziert man die Dosis verteilt auf mehrere, z.B. drei, Einzelgaben z.B. oral, aber auch subcutan.

Zum Zwecke der Ausscheidung von Schwermetallionen, z.B. von Eisen(III)ionen, kann man auch Verbindungen der Formel (I) mit veresterter 4-Carboxy-Gruppe verwenden, deren Estergruppierung unter physiologischen Bedingungen leicht verseift wird (Prodrug-Formen).

Auf der anderen Seite können die eisenhaltigen Komplexe in bestimmten Fällen als Eisendonatoren, z.B. bei Nutztieren, zur Anwendung gelangen.

Beispielsweise kann der Eisenkomplex der 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure zur Prophylaxe und Therapie der Eisenmangelanämie bei Saugferkeln eingesetzt werden. Zu diesem Zweck werden zwei Dosierungen, welche einem Eisengehalt von zusammen 100 mg pro Ferkel entsprechen, nach 11 und 16 Lebenstagen in Form einer feinverteilten Suspension in 40 ml 0,6 m Phosphatpuffer pH 7,4 mit einer Gummisonde direkt in den Magen appliziert. Das Gewicht der Ferkel beträgt bei der Geburt durchschnittlich 1,7 kg, nach 11 Lebenstagen 3-4 kg, nach 16 Lebenstagen 3,7-5,1 kg und nach 22 Lebenstagen 4,5 bis 6,5 kg. Die Messung der Hämoglobinkonzentration nach 11 Versuchstagen (22 Lebenstagen) ergibt im Vergleich zu einer Negativkontrolle (entsprechende Pufferlösung ohne Wirkstoff) signifikant erhöhte Werte.

Bei der Prüfung auf akute Toxizität an der Maus (5 Tiere von 20-25 g) erwies sich die 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure bei einer Dosis von 100 mg/kg sowohl bei peroraler, wie auch bei subkutaner Applikation als voll verträglich.

Verbindungen der Formel (I), worin die funktionellen Gruppen geschützt sind, werden in erster Linie als Zwischenprodukte zur Her-

stellung solcher Verbindungen der Formel (I) verwendet, worin die funktionellen Gruppen in freier Form vorliegen.

Die Erfindung betrifft insbesondere Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  für freies Hydroxy, Hydrocarbyloxy, Hydrocarbylcarbonyloxy oder Hydrocarbyloxycarbonyloxy steht, wobei Hydrocarbyl einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen, einen cycloaliphatischen Rest mit 5 oder 6 Ringgliedern, einen Phenylrest oder einen durch mindestens einen solchen cycloaliphatischen Rest oder Phenylrest substituierten aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen bedeutet, oder worin  $R^1$  für monocyclisches fünf- oder sechsgliedriges Heterocyclyloxy mit einem Stickstoff-, Sauerstoff- oder Schwefelatom als Ringglied oder für monocyclisches aromatisches oder niederaliphatisches Sulfonyloxy steht, worin  $R^2$  für Wasserstoff, einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen, einen cycloaliphatischen Rest mit 5 oder 6 Ringgliedern, einen Phenylrest oder einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen steht, der durch mindestens einen solchen cycloaliphatischen Rest oder Phenylrest substituiert ist, und worin  $R^3$  Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet.

In erster Linie betrifft die Erfindung Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  freies Hydroxy, Alkoxy mit 1-12 C-Atomen, monocyclisches aromatisches Sulfonyloxy, Niederalkylsulfonyloxy, Hydrocarbylcarbonyloxy oder Hydrocarbyloxycarbonyloxy bedeutet, wobei Hydrocarbyl für Niederalkyl, Cycloalkyl mit 3-8 C-Atomen, einen monocyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffrest oder für Phenylniederalkyl steht, und worin  $R^2$  einen solchen Hydrocarbylrest oder Wasserstoff und  $R^3$  Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet.

Bevorzugterweise betrifft die Erfindung Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  für freies Hydroxy, Niederalkoxy, Niederalkanoyloxy oder für jeweils unsubstituiertes oder durch Halogen, Niederalkyl oder Niederalkoxy substituiertes Phenylloxy oder Benzyloxy steht, und worin  $R^2$  Wasserstoff, Niederalkyl, oder einen Phenyl- oder Phenylniederalkylrest und  $R^3$  Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  für freies Hydroxy oder Niederalkoxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder Niederalkyl und  $R^3$  für Methyl stehen, und Salze dieser Verbindungen sowie Eisenionkomplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.

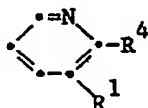
Hervorzuheben sind die Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  für Hydroxy oder Methoxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder Methyl und  $R^3$  für Wasserstoff oder Methyl stehen, sowie deren Salze.

Besonders hervorzuheben sind die vorstehend genannten Verbindungen der Formel (I), worin  $R^2$  für Wasserstoff oder einen unter physiologischen Bedingungen abspaltbaren, pharmazeutisch verträglichen Rest steht, und deren Salze, in erster Linie pharmazeutisch verwendbare Salze sowie Eisenkomplexe, besonders Eisen(III)-komplexe.

Ganz besonders bevorzugt sind die Verbindungen der Formel (I), worin  $R^3$  für Methyl steht, und deren Salze.

Die Erfindung betrifft insbesondere die in den Beispielen beschriebenen Verbindungen der Formel (I), sowie Salze, besonders pharmazeutisch verwendbare Salze, in allererster Linie 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure, vornehmlich in der nach Beispiel 2 erhältlichen optisch aktiven Form.

Die erfindungsgemässen Verbindungen der Formel (I) und Salze dieser Verbindungen sowie Metallkomplexe von solchen Verbindungen, worin der Rest  $COOR^2$  eine freie Carboxylgruppe bedeutet, deren acides Proton gegebenenfalls abgespalten ist, können durch chemische Synthese nach an sich bekannten Verfahren hergestellt werden. Sie werden beispielsweise hergestellt, indem man ein Picolinsäurederivat der Formel (II).



(II)

worin  $R^1$  freies, verethertes oder verestertes Hydroxy, mit der Massgabe, dass Hydroxy- oder andere funktionelle Gruppen gegebenenfalls in ge-

haltigen Säure, z.B. Phosphorsäure, Diäthylphosphorsäure oder phosphoriger Säure, oder mit einer schwefelhaltigen Säure, z.B. Schwefelsäure, oder mit Cyanwasserstoffsäure. Weitere gemischte Anhydride sind z.B. diejenigen mit organischen Carbonsäuren, wie mit gegebenenfalls, z.B. durch Halogen, wie Fluor oder Chlor, substituierten Niederalkancarbonsäuren, z.B. Pivalinsäure oder Trichloressigsäure, oder mit Halbestern, insbesondere Niederalkylhalbestern der Kohlensäure, wie dem Äthyl- oder Isobutylhalbestern der Kohlensäure, oder mit organischen, insbesondere aliphatischen oder aromatischen, Sulfonsäuren, z.B. p-Toluolsulfonsäure.

Unter den aktivierten Estern sind z.B. zu nennen: Ester mit vinylogenen Alkoholen (d.h. Enolen, wie vinylogenen Niederalkenolen), oder Iminomethylesterhalogeniden, wie Dimethyliminomethylesterchlorid (hergestellt aus der Carbonsäure und z.B. Dimethyl-(1-chlor-äthyliden)-iminium-chlorid der Formel  $(\text{CH}_3)_2\text{N}^+\text{C}(\text{Cl})\text{CH}_3 \text{Cl}^-$ , das man z.B. aus N,N-Dimethyl-acetamid und Phosgen erhalten kann), oder Arylester, wie vorzugsweise geeignete, z.B. durch Halogen, wie Chlor, und/oder Nitro, substituierte Phenylester, z.B. 4-Nitro-phenyl-, 2,3-Dinitrophenyl- oder 2,3,4,5,6-Pentachlor-phenylester, N-heteroaromatische Ester, wie N-Benztriazol-, z.B. 1-Benztriazolester, oder N-Diacyliminoester, wie N-Succinylimino- oder N-Phthalyliminoester.

Geeignete aktivierte Amide sind z.B. insbesondere Imidazolide, ferner 1,2,4-Triazolide, Tetrazolide oder 1,2,4-Oxadiazolinonide.

Die Aktivierung einer Carboxylgruppe  $\text{R}^4$  in dem Picolinsäurederivat kann auch in situ erfolgen.

Ein reaktives funktionelles Derivat eines 2-Amino-3-mercapto-2- $\text{R}^3$ -propionsäurederivates der Formel (III) ist eine Verbindung, in der die Amino- und/oder Mercaptogruppe für die Reaktion mit der Carboxylgruppe einer Verbindung der Formel (II) aktiviert ist, also in nucleophiler Form vorliegt. Die Aminogruppe ist beispielsweise durch

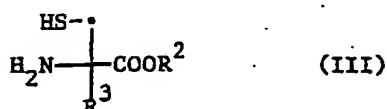
Reaktion mit einem Phosphit aktiviert.

Eine bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemässen Reaktion ist die Umsetzung einer Verbindung der Formel (II), worin  $R^4$  Cyano bedeutet, mit einem Cysteinderivat der Formel (III), die z.B. wie im Beispielteil beschrieben durchgeführt wird.

Die Reaktion von freiem Carboxyl  $R^4$  mit dem gewünschten Cysteinderivat wird bevorzugterweise in Gegenwart eines geeigneten Kondensationsmittels oder unter wasserentziehenden Bedingungen, z.B. Entzug des Reaktionswassers durch azeotrope Destillation durchgeführt. Uebliche Kondensationsmittel sind z.B. Carbodiimide, beispielsweise N,N'-Diäthyl-, N,N'-Dipropyl-, N,N'-Dicyclohexyl- oder N-Aethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid, geeignete Carbonylverbindungen, beispielsweise Carbonyldiimidazol, oder 1,2-Oxazoliumverbindungen, z.B. 2-Aethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3'-sulfonat und 2-tert.-Butyl-5-methylisoxazolium-perchlorat, oder eine geeignete Acylaminoverbindung, z.B. 2-Aethoxy-1-äthoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin. Die Kondensationsreaktion wird vorzugsweise in einem wasserfreien Reaktionsmedium, vorzugsweise in Gegenwart eines Lösungs- oder Verdünnungsmittels, z.B. Methylenchlorid, Benzol oder Tetrahydrofuran und, wenn notwendig, unter Kühlen oder Erwärmen und/oder in einer Inertgasatmosphäre durchgeführt.

Verbindungen der Formel (I), worin  $R^3$  Niederalkyl bedeutet, werden in an sich bekannter Weise hergestellt, indem man in einer Verbindung der Formel (I), worin  $R^3$  für Wasserstoff steht und worin  $R^1$  und  $R^2$  wie für Formel (I) definiert sind mit der Massgabe, dass darin vorhandene funktionelle Gruppen, wenn erwünscht, in geschützter Form vorliegen, mit einer Base in 4-Stellung ein Proton entfernt und das erhaltene Zwischenprodukt mit einem den Rest  $R^3$  übertragenden Alkylierungsmittel umsetzt, in dem das Alkylkohlenstoffatom, das die neue Bindung eingeht, eine positive Partialladung trägt, und wenn erwünscht, gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet und/oder

geschützter Form vorliegen, und  $R^4$  eine Cyano- oder Carboxylgruppe oder ein reaktives funktionelles Derivat derselben bedeuten, mit einem 2-Amino-3-mercapto-2- $R^3$ -propionsäurederivat der Formel (III),



worin die Substituenten wie oben definiert sind, mit der Massgabe, dass eine oder mehrere in der Verbindung vorhandene funktionelle Gruppen gegebenenfalls in geschützter Form vorliegen, oder mit einem reaktiven funktionellen Derivat davon umgesetzt und, wenn erwünscht, gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abspaltet und/oder in einer erhaltenen Verbindung der Formel I eine 3'-Hydroxy-Gruppe verestert oder verethert oder eine veresterte oder veretherte Hydroxygruppe in eine freie überführt und/oder eine Carboxylgruppe mit einem den Rest  $R^2$  enthaltenden Veresterungsmittel verestert oder eine veresterte Carboxylgruppe verseift und/oder die Verbindungen der Formel (I) in ihre Säureadditionssalze oder die Verbindungen der Formel (I) mit freier Carboxylgruppe in ihre Metallsalze oder in Schwermetallkomplexe überführt und, wenn erwünscht, Racemate in die optisch aktiven Formen auftrennt.

Ein reaktives funktionelles Derivat einer Carboxylgruppe  $R^4$  ist beispielsweise ein Säureanhydrid, ein aktivierter Ester oder ein aktiviertes Amid.

Unter den Anhydriden sind die gemischten Anhydride besonders geeignet. Gemische Anhydride sind z.B. diejenigen mit anorganischen Säuren, wie Halogenwasserstoffsäuren, d.h. die entsprechenden Säurehalogenide, z.B. -chloride oder -bromide, ferner mit Stickstoffwasserstoffsäure, d.h. die entsprechenden Säureazide, mit einer phosphor-



in einer erhaltenen Verbindung der Formel (I) eine 3'-Hydroxy-Gruppe verestert oder verethert oder eine veresterte oder veretherte Hydroxygruppe in eine freie überführt und/oder eine Carboxylgruppe mit einem den Rest  $R^2$  enthaltende Veresterungsmittel verestert oder eine veresterte Carboxylgruppe verseift und/oder die Verbindungen der Formel (I) in ihre Säureadditionssalze oder die Verbindungen der Formel (I) mit freier Carboxylgruppe in ihre Metallsalze oder in Schwermetallkomplexe überführt und, wenn erwünscht, Racemate in die optisch aktiven Formen auftrennt.

Geeignete Basen sind z.B. Metallierungsreagentien, wie unsubstituierte oder substituierte Alkalimetallamide, z.B. Natriumamid, Lithiumamid oder bevorzugterweise sterisch gehinderte Lithiumamide, z.B. Lithium-trimethylsilyl-amid, Lithium-isopropyl-cyclohexyl-amid oder Lithiumdialkylamide, wie Lithiumdiisopropylamid, oder Alkalimetallniederalkylverbindungen, wie Methyl-, n- oder tert.-Butyllithium, daneben auch Alkalimetallhydride, wie Natriumhydrid.

Wenn die Reaktion unter Phasentransferbedingungen oder in Gegenwart von geeigneten Komplexbildnern für das Basenkation, wie Kronenäthern, z.B. 18-Krone-6, durchgeführt wird, sind auch schwächere Basen, wie Alkalimetallhydroxide, z.B. Kaliumhydroxid, geeignet.

Geeignete den Rest  $R^3$  übertragende Alkylierungsmittel sind z.B. Niederalkyl- oder Niederalkenylverbindungen mit einer nucleophilen Abgangsgruppe, z.B. Halogenide, wie Chloride, Bromide oder vor allem Jodide, z.B. Methyljodid oder Allylbromid, oder Sulfonsäure- oder Schwefelsäureester von unsubstituierten aliphatischen Alkoholen mit 1-7 C-Atomen, z.B. Toluolsulfonsäureisopropylester, Methylsulfonsäurebutylester oder Diethylsulfat.

Die mit den obengenannten Alkalimetallamiden, -hydriden oder -niederalkylverbindungen durchgeführte Metallierung wird in einem inerten, aprotischen Lösungsmittel und unter Schutzgas durchgeführt, beispielsweise in einem Kohlenwasserstoff, z.B. Hexan, Benzol, Toluol oder Xylol, einem schwach polaren Äther, z.B. Diethylether, Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder einem Säureamid, z.B. Hexamethylphosphorsäuretriamid, oder Mischungen davon. Die Reaktionstemperatur liegt zwischen etwa  $-80^{\circ}$  und etwa Raumtemperatur, in Abhängigkeit vornehmlich vom Schmelzpunkt des Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches und von der Reaktivität des jeweiligen Metallierungsreagens in dem gewählten Lösungsmittel, aber auch von der Löslichkeit und der Reaktivität des Substrats.

Die Alkylierung erfolgt bei weit höherer Temperatur als die Metallierung und wird in der Regel so durchgeführt, dass man das Alkylierungsmittel nach beendeter Metallierung in das Reaktionsgefäß gibt, und dieses aufwärmen lässt.

Weitere Einzelheiten zur Durchführung von Metallierungs- und Alkylierungsreaktionen, die den oben beschriebenen analog sind, sind z.B. beschrieben in Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Band XIII/1, Thieme Verlag, Stuttgart 1970.

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I), worin  $R^1$  für eine freie Hydroxygruppe und/oder  $R^2$  für Wasserstoff steht, ist dadurch gekennzeichnet, dass man in einer Verbindung der Formel (I), worin  $R^1$  eine geschützte Hydroxygruppe und/oder  $COOR^2$  eine geschützte Carboxylgruppe bedeuten, mindestens eine Schutzgruppe abspaltet.

Verbindungen der Formel I, worin  $R^3$  eine Methylgruppe bedeutet, und die übrigen Substituenten die für Formel I angegebene Bedeutung haben, und die obengenannten Salze und Metallkomplexe dieser Verbindungen kann man ausser nach den vorstehend beschriebenen Anal-

gieverfahren auch nach einem neuen erfinderischen Verfahren herstellen, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man den Stamm *Streptomyces antibioticus* Waksman et Henrici Tü 1998 (DSM 1865) oder eine 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure bildende Mutante dieses Stammes in einer wässerigen, eine Kohlenstoff- und Stickstoffquelle sowie anorganische Salze enthaltenden Nährlösung aerob züchtet und aus der Nährlösung die 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure oder einen stabilen Schwermetallkomplex dieser Säure isoliert und, wenn erwünscht, aus dem Schwermetallkomplex die 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure oder ein Salz derselben freisetzt, und, wenn erwünscht, eine 3'-Hydroxy-Gruppe verestert oder verethert oder eine veresterte oder veretherte Hydroxygruppe in eine freie überführt und/oder eine Carboxylgruppe mit einem den Rest  $R^2$  enthaltenden Veresterungsmittel verestert oder eine veresterte Carboxylgruppe verseift und/oder die Verbindungen der Formel (I) in ihre Säureadditionssalze oder die Verbindungen der Formel (I) mit freier Carboxylgruppe in ihre Metallsalze oder in Schwermetallkomplexe überführt.

Möglicherweise lassen sich aus Verbindungen der Formel I auf dem genannten mikrobiologischen Weg herstellen, worin  $R^3$  die anderen obengenannten Bedeutungen hat, indem man der Nährlösung Cystein oder entsprechende Cysteinderivate zusetzt.

Der Stamm *Streptomyces antibioticus* Tü 1998 ist unter der Bezeichnung DSM 1865 am 16. Juni 1980 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen, Grisebachstrasse 8, D-3400 Göttingen, hinterlegt worden.

Der Stamm ist durch folgende Merkmale charakterisiert:

Seine Sporen sind ellipsoid,  $0,6-1,4 \mu \times 0,5 - 1,2 \mu$  gross,

und haben eine glatte bis leicht warzige (event. Folge der Präparation) Oberfläche. Das Luftmycel ist anfänglich weissgrau und wird mit zunehmender Reife grau bis aschgrau.

Die Sporenketten sind monopodial verzweigt und nur leicht gewellt. Auf peptonhaltigen Nährböden, vor allem dem "pepton-iron-agar" bildet der Stamm ein dunkles melaninartiges Pigment. Das Substratmycel ist dunkel bis braunrot. Durch die auf einigen Nährböden gleichzeitig gebildeten Rubromycine erscheint das Substrat weinrot bis braunrot verfärbt.

Das Antibiotikum bildende Mutanten können zum Beispiel unter der Einwirkung von Ultraviolett- oder Röntgenstrahlen oder von chemischen Mutagenen, z.B. N-Methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidin, gewonnen werden.

Als Kohlenstoffquelle sind beispielsweise zu nennen: assimilierbare Kohlenhydrate, zum Beispiel Glucose, Saccharose, Lactose, Mannit, Stärke, Glycerin. Als stickstoffhaltige Nährstoffe seien genannt: Aminosäuren, Peptide und Proteine sowie deren Abbauprodukte wie Pepton oder Trypton, ferner Fleischextrakte, wasserlösliche Anteile von Getreidekörnern, wie Mais und Weizen, von Destillationsrückständen der Alkoholherstellung, von Hefe, Bohnen, insbesondere der Sojapflanze, von Samen, beispielsweise der Baumwollpflanze usw., aber auch Ammoniumsalze und Nitrate. Von anderen anorganischen Salzen kann die Nährlösung beispielsweise Chloride, Carbonate, Sulfate, Phosphate von Alkali- oder Erdalkalimetallen, von Magnesium, Eisen, Zink und Mangan enthalten.

Die Züchtung erfolgt aerob, also beispielsweise in ruhender Oberflächenkultur oder vorzugsweise submers unter Schütteln oder Rühren mit Luft oder Sauerstoff im Schüttelkolben oder den bekannten Fermentern. Als Temperatur eignet sich eine solche zwischen 18 und 40°C, vorzugsweise etwa 27°C. Eine wesentliche antibakterielle Wirkung zeigt die Nährlösung dabei im allgemeinen nach 3 bis 7 Tagen. Vorzugsweise kultiviert man in mehreren Stufen, d.h. man stellt zunächst eine

oder mehrere Vorkulturen in flüssigem Nährmedium her, die dann in das eigentliche Produktionsmedium, zum Beispiel im Verhältnis 1:20, überimpft werden.

Bevorzugterweise zieht man die Vorkultur auf der gleichen Nährlösung an und lässt sie etwa 48 Stunden wachsen. Der Produzentensamm schädigt die 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure (eisenfrei) in die Kulturlösung aus.

Bei der erfindungsgemässen Fermentation entstehen ausser 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure noch weitere Produkte, von denen  $\beta$ - und  $\gamma$ -Rubromycine identifiziert werden konnten, die ursprünglich als Metabolite von *Streptomyces collinus* Lindenbein beschrieben worden waren [H. Brockmann und K.H. Renneberg, Naturwiss. 40, 59-60 (1953); H. Brockmann, W. Lenk, G. Schwanthe und A. Zeeck, Tetrahedron Letters 1966, 3525; H. Brockmann und A. Zeeck, Chem. Ber. 103, 1709-1726 (1970)].

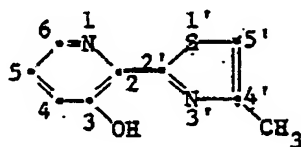
Die Isolierung der 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure kann nach an sich bekannten Methoden unter Berücksichtigung der chemischen, physikalischen und biologischen Eigenschaften des Antibiotikums erfolgen. Bevorzugterweise versetzt man die Kulturen bei einem pH-Wert in der Nähe des Neutralpunktes, z.B. bei pH 7,5, mit einer zur Komplexierung des Antibiotikums ausreichenden Menge eines Schwermetallsalzes, das mit dem Antibiotikum stabile isolierbare Komplexe bildet, z.B. mit Eisen(III)-chlorid -Hexahydrat oder anderen Eisen(III)salzen.

Bei Zugabe von Eisen(III)salzen bildet sich ein charakteristisch gefärbter Eisenkomplex ("Ferrithiocin"), der sich bei neutralem pH und Kochsalzsättigung mit Essigester extrahieren lässt. Die Extraktion gelingt auch mit Methylenchlorid/iso-Propanol 85:15 bei pH 8,5 nach dem Extralut<sup>R</sup>-Verfahren

[J. Breiter, Kontakte Merck, 3, 9-14 (1977)], wobei Eisenionen aus dem Füllmaterial der Extraktionssäule zur Komplexbildung ausreichen. Die Reinigung der Extrakte erfolgt durch Extraktion der lipophilen Bestandteile mit Methylenchlorid aus Wasser und Chromatographieren an Sephadex LH-20. Der so gewonnene Eisenkomplex Ferrithiocin kann ohne weitere Reinigung aus Methanol/Acetonitril/Toluol kristallisiert werden.

Bei der milden Oxidation dieses Eisenkomplexes mit Kaliumpermanganat in wässriger Natronlauge entsteht ein Oxidationsprodukt mit einem Molekularionpik  $m/z = 192$ . Durch hochauflösendes Massenspektrum wird ihm die Summenformel  $C_9H_8N_2OS$  zugeordnet. Im  $^1H$ -NMR-Spektrum des Oxidationsproduktes erscheint anstelle des AB Systems der ursprünglichen Methylengruppe ein olefinisches Singulett bei 6,94 ppm. Gleichzeitig wird das Singulett der tertiären Methylgruppe nach tieferem Feld auf 2,48 ppm verschoben.

Aufgrund dieser Daten handelt es sich bei dem Oxidationsprodukt um 3-Hydroxy-2-(4'-methyl-thiazol-2'-yl)-pyridin der Formel



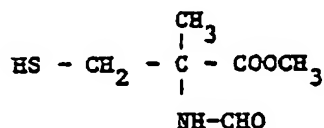
Die Behandlung des Eisenkomplexes Ferrithiocin mit  $OH^-$ -Ionen in ausreichender Konzentration, bevorzugterweise in Form von Alkalimetallhydroxid, z.B. mit 1 N NaOH, Abfiltrieren von Eisenhydroxyd und Ansäuern auf pH 3 liefert 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure in schwefelgelben, filzigen Nadeln. Das Massenspektrum zeigt einen Molekularionpik mit  $m/z$  238, dem durch Hochauflösung die Summenformel  $C_{10}H_{10}N_2O_3S$  zugeordnet wird. Die Mikroanalyse passt am besten auf eine Verbindung mit einer Molekel Wasser, das aber beim scharfen Trocknen wieder verloren geht. Im

IR-Absorptionsspektrum weist die breite Absorptionsbande zwischen 3600 und  $2200\text{ cm}^{-1}$  sowie eine Carbonylbande bei  $1695\text{ cm}^{-1}$  auf das Vorhandensein einer Carboxylgruppe hin. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum wird das Signal bei 180 ppm dem Carboxyl-Kohlenstoffatom zugeordnet. Das 3. Sauerstoffatom wird einer phenolischen, wasserstoffbrückengebundenen OH Gruppe zugeordnet. Im IR-Spektrum findet man die dazugehörige Bande bei  $3550\text{ cm}^{-1}$  und im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des entsprechenden 4-Carbonsäure-Methylesters und des oben angeführten Oxidationsproduktes 3-Hydroxy-2-(4'-methyl-thiazol-2'yl)-pyridin ein mit  $\text{D}_2\text{O}$  austauschbares Singulett bei 12 ppm. Eine tertiär gebundene Methylgruppe gibt im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ein Singulett bei 1,61 ppm und eine Methylengruppe ein AB-System bei 3,30 und 3,75 ppm mit  $J = 12\text{ Hz}$ . Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum findet man die entsprechenden Signale als Quartett bei 25,5 ppm und als Triplett bei 40,7 ppm. Die gemäss Bruttoformel noch verbleibenden 3 Wasserstoffatome sind an einen Aromaten gebunden (Signale bei 7,45 ppm, 2 H, und 8,18 ppm, 1H, im  $^1\text{H}$ -NMR; Dublette bei 126,0, 128,1 und 141,1 ppm im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum).

Ueber die Art und das Substitutionsmuster des aromatischen Rings der durch Behandlung des Ferrithiocins mit Natronlauge erhaltenen eisenfreien Verbindung, gibt eine saure Hydrolyse Auskunft. Nach Behandlung mit 6 N HCl bei  $90^\circ$  während 1 Stunde isoliert man mittels präparativer DC eine aromatische Carbonsäure ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$ ,  $M^+ 139$ ), aus der man durch Veresterung mit Diazomethan eine Verbindung erhält, die als 3-Hydroxy-picolinsäuremethylester identifiziert wird. Die Struktur ergibt sich aus dem Massenspektrum:  $M^+ = 253$ ,  $m/z 223$  ( $M^+ - \text{CH}_2=\text{O}$ , Mac Lafferty Umlagerung), 221 ( $M^+ - \text{CH}_3\text{OH}$ ), 95 ( $M^+ - \text{CH}_2=\text{CO}$ ) usw., sowie aus dem  $^1\text{H}$ -NMR- und IR-Spektrum, die mit den Spektren einer authentischen Probe dieser Verbindung übereinstimmen.

Eine weitere Komponente der sauren Hydrolyse, die auf Dünnschicht (DC)-Platten mit Nitroprussid-Natrium [vgl. G. Tonnies and J.J. Kolb, Anal. Chemistry 23, 823 (1951)] anfärbbar ist, lässt sich mittels Chromatographie an CM Sephadex C-25 in Pyridin/Acetatpuffer pH 5 isolieren.

Diese Verbindung erweist sich nur bei tiefen Temperaturen ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) und unter Stickstoff als stabil. Ein stabileres, gemäss DC und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht ganz einheitliches Derivat der Formel



erhält man durch Behandlung des Rohproduktes mit Diazomethan in absolutem Dimethylformamid unter Zugabe von  $\text{BF}_3$ -Etherkomplex und anschließender Reinigung auf präparativer DC-Platte. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum findet man ein Methylestersignal bei 3,78 ppm sowie bei 1,67 ppm das Singulett einer tertiären Methylgruppe. Bei 1,35 ppm erscheint ein Doppeldublett entsprechend 1 H mit einer Kopplungskonstanten J von 8 und 10 Hz, das bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  verschwindet. Dieses Signal wird einer primären SH-Gruppe zugeordnet. Der Kopplungspartner, eine vicinale  $\text{CH}_2$ -Gruppe, ergibt sich durch 2 Doppeldubletten bei 2,96 ppm mit J von 10 und 14 Hz sowie bei 3,55 mit J von 8 und 14 Hz zu erkennen. Diese Signalgruppe wird bei  $\text{D}_2\text{O}$ -Zugabe zu 2 Dubletten mit J von 14 Hz reduziert. Eine N-Formylgruppe erkennt man aufgrund eines Dubletts mit J von 2 Hz bei 8,17 ppm sowie des breiten Signals eines Amidprotons bei 6,6 ppm. Offensichtlich ist unter den gewählten Reaktionsbedingungen die Formylgruppe vom Lösungsmittel DMF auf den Stickstoff des Abbauproduktes übertragen worden. Anhand dieser Signale ergibt sich für dieses Abbauprodukt die o.a. Struktur (N-Formyl-2-methylcysteinmethylester). Das Massenspektrum zeigt zwar keinen Molekularpik ( $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_3\text{S}$ , M.G. 177), die beobachteten Fragmente passen aber gut auf die Struktur:  $m/z$  132 ( $\text{M}^+ - \text{HN}=\text{CH}-\text{OH}$ , Mac Lafferty Umlagerung, 100% Int.), 118 ( $\text{M}^+ - \text{COOCH}_3$ ), 100 ( $\text{M}^+ - \text{NH}=\text{CH}-\text{OH}$  und  $-\text{CH}_3\text{OH}$ ). Dieses Abbauergebnis weist auf ein Thiazolinderivat hin.

Verbindungen der Formel (I), in denen die 4-Carboxy-Gruppe verestert (vgl. u.) oder z.B. durch milde Oxidation mit Kaliumpermanganat entfernt ist, zeigen mit  $\text{FeCl}_3$ -Lösung wohl noch eine



Farbreaktion, bilden aber keine isolierbaren Komplexe mehr. Dies weist darauf hin, dass die freie 4-Carboxy-Gruppe zur Komplexbildung essenziell ist.

Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen der Formel (I) können in an sich bekannter Weise in andere Verbindungen der Formel (I) überführt werden.

In den Verbindungen der Formel (I), in denen  $R^1$  eine freie Hydroxylgruppe bedeutet, kann diese nach an sich bekannten Methoden verethert oder verestert werden. Eine freie 4-Carboxy-Gruppe kann verestert werden.

Geeignete Mittel zur Veretherung der 3'-OH-Gruppe und zur Veresterung der Carboxylgruppe sind beispielsweise entsprechende Diazoverbindungen, wie gegebenenfalls substituierte Diazoniederalkane, z.B. Diazomethan, Diazoethan, Diazo-n-butan oder Diphenyldiazomethan. Diese Reagenzien werden in Gegenwart eines geeigneten inerten Lösungsmittels, wie eines aliphatischen, cycloaliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffs, wie Hexan, Cyclohexan, Benzol oder Toluol, eines halogenierten aliphatischen Kohlenwasserstoffs, z.B. Methylenchlorid, oder eines Ethers, wie eines Diniederalkylethers, z.B. Diethylether, oder eines cyclischen Ethers, z.B. Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder eines Lösungsmittelgemisches, und, je nach Diazoreagens, unter Kühlung, bei Raumtemperatur oder unter leichtem Erwärmen, ferner, wenn notwendig, in einem geschlossenen Gefäss und/oder unter einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre, zur Anwendung gebracht.

Behandelt man beispielsweise 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methylthiazolin-4-carbonsäure bei 0° mit Diazomethan, erhält man den 4-Carbonsäuremethylester, der im IR-Spektrum ( $\text{CHCl}_3$ ) bei  $1735\text{ cm}^{-1}$  die Bande eines aliphatischen Esters und im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ein zusätzli-

ches Singulett entsprechend 3 H bei 3,77 ppm zeigt. Führt man die gleiche Reaktion erschöpfend bei Raumtemperatur aus, wird auch die phenolische 3'-Hydroxygruppe methyliert, was aus dem Verschwinden des Signals bei 12 ppm und dem Entstehen eines Singuletts bei 3,88 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR hervorgeht.

Weitere geeignete Mittel zur Veretherung der 3'-OH-Gruppe und zur Veresterung der Carboxylgruppe sind Ester entsprechender Alkohole, in erster Linie solche mit starken anorganischen oder organischen Säuren, wie Mineralsäuren, z.B. Halogenwasserstoffsäuren, wie Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff- oder Jodwasserstoffsäure, ferner Schwefelsäure, oder Halogen-schwefelsäure, z.B. Fluorschwefelsäure, oder starken organischen Sulfonsäuren, wie gegebenenfalls, z.B. durch Halogen, wie Fluor, substituierten Niederalkansulfonsäuren, oder aromatischen Sulfonsäuren, wie z.B. gegebenenfalls durch Niederalkyl, wie Methyl, Halogen, wie Brom, und/oder Nitro substituierten Benzolsulfonsäuren, z.B. Methansulfon-, Trifluormethansulfon- oder p-Toluolsulfonsäure. Solche Ester sind u.a. Niederalkylhalogenide, Diniederalkylsulfate, wie Dimethylsulfat, ferner Fluorsulfonsäure-ester, wie -niederalkylester, z.B. Fluorsulfonsäuremethylester, oder gegebenenfalls Halogen-substituierte Methansulfonsäure-niederalkylester, z.B. Trifluormethansulfonsäuremethylester. Sie werden üblicherweise in Gegenwart eines inerten Lösungsmittels, wie eines gegebenenfalls halogenierten, wie chlorierten, aliphatischen, cycloaliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffs, z.B. Methylenchlorid, eines Ethers, wie Dioxan oder Tetrahydrofuran, oder eines Gemisches verwendet. Dabei wendet man vorzugsweise geeignete Kondensationsmittel, wie Alkalimetallcarbonate oder -hydrogencarbonate, z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat oder -hydrogencarbonat (üblicherweise zusammen mit einem Sulfat), oder organische Basen, wie üblicherweise sterisch gehinderte Triniederalkylamine, z.B. N,N-Diisopropyl-N-ethyl-amin (vorzugsweise zusammen mit Halogensulfonsäure-niederalkylestern oder gegebenenfalls halogensubstituierten Methansulfonsäure-

niederalkylestern) an, wobei unter Kühlen, bei Raumtemperatur oder unter Erwärmen, z.B. bei Temperaturen von etwa  $-20^{\circ}\text{C}$  bis etwa  $50^{\circ}\text{C}$  und, wenn notwendig, in einem geschlossenen Gefäß und/oder in einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre, gearbeitet wird.

Durch Phasentransfer-Katalyse [siehe Dehmlow, Angewandte Chemie, Bd. 5, S. 187 (1974)] kann die oben beschriebene Veretherungsreaktion wesentlich beschleunigt werden. Als Phasentransfer-Katalysatoren können quartäre Phosphoniumsalze und insbesondere quartäre Ammoniumsalze, wie gegebenenfalls substituierte Tetraalkylammoniumhalogenide, z.B. Tetrabutylammoniumchlorid, -bromid oder -jodid, oder auch Benzyl-triäthylammoniumchlorid, in katalytischen oder bis zu äquimolaren Mengen verwendet werden. Als organische Phase kann irgendeines der mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel dienen, beispielsweise einer der gegebenenfalls halogenierten, wie chlorierten, niederaliphatischen, cycloaliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffe, wie Tri- oder Tetrachlorethylen, Tetrachlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chlorbenzol, Toluol oder Xylol. Die als Kondensationsmittel geeigneten Alkalimetallcarbonate oder -hydrogencarbonate, z.B. Kalium- oder Natriumcarbonat oder -hydrogencarbonat, Alkalimetallphosphate, z.B. Kaliumphosphat, und Alkalimetallhydroxide, z.B. Natriumhydroxid, können bei basenempfindlichen Verbindungen der Reaktionsmischung titrimetrisch, z.B. mittels eines Titrierautomaten, zugesetzt werden, damit der pH-Wert während der Veretherung zwischen etwa 7 und etwa 8,5 bleibt.

Weitere Mittel zur Veretherung der 3'-OH-Gruppe oder zur Veresterung der 4-Carboxylgruppe sind entsprechende trisubstituierte Oxoniumsalze (sogenannte Meerweinsalze), oder disubstituierte Carbenium- oder Haloniumsalze, worin die Substituenten die verethernden Reste sind, beispielsweise Triniederalkyloxoniumsalze, sowie Diniederalkoxycarbenium- oder Diniederalkylhaloniumsalze, insbesondere die entsprechenden Salze mit komplexen, fluorhaltigen Säuren, wie die

entsprechenden Tetrafluorborate, Hexafluorphosphate, Hexafluorantimonate, oder Hexachlorantimonate. Solche Reagentien sind z.B. Trimethyloxonium- oder Triethyloxonium-hexafluorantimonat, -hexachlorantimonat, -hexafluorphosphat oder -tetrafluorborat, Dimethoxycarbeniumhexafluorphosphat oder Dimethylbromoniumhexafluorantimonat. Man verwendet diese Veretherungsmittel vorzugsweise in einem inerten Lösungsmittel, wie einem Ether oder einem halogenierten Kohlenwasserstoff, z.B. Diethylether, Tetrahydrofuran oder Methylenchlorid, oder in einem Gemisch davon, wenn notwendig, in Gegenwart einer Base, wie einer organischen Base, z.B. eines, vorzugsweise sterisch gehinderten, Triniederalkylamins, z.B. N,N-Diisopropyl-N-ethyl-amin, und unter Kühlen, bei Raumtemperatur oder unter leichtem Erwärmen, z.B. bei etwa -20°C bis etwa 50°C, wenn notwendig, in einem geschlossenen Gefäß und/oder in einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre.

Weitere Veretherungsmittel sind schliesslich entsprechende 1-substituierte 3-Aryltriazenverbindungen, worin der Substituent den verethernden Rest, und Aryl vorzugsweise gegebenenfalls substituiertes Phenyl, z.B. Niederalkylphenyl, wie 4-Methylphenyl, bedeutet. Solche Triazenverbindungen sind 3-Aryl-1-niederalkyltriazen, z.B. 3-(4-Methylphenyl)-1-methyl-triazen, 3-(4-Methylphenyl)-1-ethyl-triazen oder 3-(4-Methylphenyl)-1-isopropyl-triazen. Diese Reagentien werden üblicherweise in Gegenwart von inerten Lösungsmitteln, wie gegebenenfalls halogenierten Kohlenwasserstoffen oder Ethern, z.B. Benzol, oder Lösungsmittelgemischen, und unter Kühlen, bei Raumtemperatur und vorzugsweise bei erhöhter Temperatur, z.B. bei etwa 20°C bis etwa 100°C, wenn notwendig in einem geschlossenen Gefäß und/oder in einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre, verwendet.

Die Umwandlung von freiem Carboxyl in einer Verbindung der Formel (I) in verestertes Carboxyl, kann weiterhin beispielsweise erfolgen, indem man eine Verbindung der Formel (I), worin andera, gegebenenfalls vorhandene funktionelle Gruppen gegebenenfalls in geschützter Form vorliegen, oder ein reaktionsfähiges funktionelles

Carboxyderivat, inkl. ein Salz davon, mit einem entsprechenden Alkohol oder einem reaktionsfähigen funktionellen Derivat davon umgesetzt.

Die Veresterung von freiem Carboxyl mit dem gewünschten Alkohol wird in Gegenwart eines geeigneten Kondensationsmittels durchgeführt. Übliche Kondensationsmittel sind z.B. Carbodiimide, beispielsweise N,N'-Diethyl-, N,N'-Dipropyl-, N,N'-Dicyclohexyl- oder N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid, geeignete Carbonylverbindungen, beispielsweise Carbonyldiimidazol, oder 1,2-Oxazoliumverbindungen, z.B. 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3'-sulfonat und 2-tert.-Butyl-5-methyl-isoxazolium-perchlorat, oder eine geeignete Acylaminoverbindung, z.B. 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin. Die Kondensationsreaktion wird vorzugsweise in einem wasserfreien Reaktionsmedium, vorzugsweise in Gegenwart eines Lösungs- oder Verdünnungsmittels, z.B. Methylenchlorid, Dimethylformamid, Acetonitril oder Tetrahydrofuran und, wenn notwendig, unter Kühlen oder Erwärmen und/oder in einer Inertgasatmosphäre durchgeführt.

Geeignete reaktionsfähige funktionelle Derivate der zu veresternden Carboxylverbindungen der Formel (I) sind z.B. Anhydride, insbesondere gemischte Anhydride, und aktivierte Ester.

Gemischte Anhydride sind z.B. diejenigen mit anorganischen Säuren, wie Halogenwasserstoffsäuren, d.h. die entsprechenden Säurehalogenide, z.B. -chloride oder -bromide, ferner Stickstoffwasserstoffsäuren, d.h. die entsprechenden Säureazide, sowie phosphorhaltigen Säuren, z.B. Phosphorsäure, Diethylphosphorsäure oder phosphorige Säure, oder schwefelhaltigen Säuren, z.B. Schwefelsäure, oder Cyanwasserstoffsäure. Gemischte Anhydride sind weiter z.B. diejenigen mit organischen Carbonsäuren, wie mit gegebenenfalls, z.B. durch Halogen, wie Fluor oder Chlor, substituierten Niederalkancarbonsäuren, z.B. Pivalinsäure oder Trichloressigsäure, oder mit Halbestern, ins-

besondere Niederalkylhalbestern der Kohlensäure, wie Ethyl- oder Isobutylhalbestern der Kohlensäure, oder mit organischen, insbesondere aliphatischen oder aromatischen Sulfonsäuren, z.B. p-Toluolsulfonsäure.

Zur Reaktion mit dem Alkohol geeignete aktivierte Ester sind z.B. Ester mit vinylogen Alkoholen (d.h. Enolen), wie vinylogen Niederalkenolen, oder Iminomethylesterhalogeniden, wie Dimethyliminomethylesterchlorid (hergestellt aus der Carbonsäure und Dimethylchlormethylen-iminium-chlorid der Formel  $[(CH_3)_2N=CHCl]^{\oplus}Cl^{\ominus}$ ), oder Arylester, wie Pentachlorphenyl-, 4-Nitrophenyl- oder 2,3-Dinitrophenylester, heteroaromatische Ester, wie Benztriazol-, z.B. 1-Benztriazolester, oder Diacyliminoester, wie Succinylimino- oder Phthalyliminoester.

Die Acylierung mit einem solchen Säurederivat, wie einem Anhydrid, insbesondere mit einem Säurehalogenid, wird bevorzugt in Anwesenheit eines säurebindenden Mittels, beispielsweise einer organischen Base, wie eines organischenamins, z.B. eines tertiärenamins, wie Triniederalkylamin, z.B. Trimethylamin, Triethylamin oder Ethyldiisopropylamin, oder N,N-Diniederalkyl-anilin, z.B. N,N-Dimethylanilin, oder eines cyclischen tertiärenamins, wie eines N-niederalkylierten Morpholins, wie N-Methylmorpholin, oder einer Base vom Pyridin-Typ, z.B. Pyridin, einer anorganischen Base, beispielsweise eines Alkalimetall- oder Erdalkalimetallhydroxids, -carbonats oder -hydrogencarbonats, z.B. Natrium-, Kalium- oder Calciumhydroxid, -carbonat oder -hydrogencarbonat, oder eines Oxirans, beispielsweise eines niederen 1,2-Alkylenoxids, wie Ethylenoxid oder Propylenoxid, durchgeführt.

Ein reaktionsfähiges funktionelles Derivat des veresternden Alkohols ist in erster Linie ein entsprechender Ester, vorzugsweise mit einer starken anorganischen oder organischen Säure und stellt insbesondere ein entsprechendes Halogenid, z.B. Chlorid, Bromid oder Jodid, oder eine entsprechende Niederalkyl- oder Aryl-, wie Methyl- oder 4-Methylphenylsulfonyloxyverbindung dar.

Ein solcher reaktionsfähiger Ester eines Alkohols kann mit der freien Carboxylverbindung der Formel (I) oder einem Salz, -wie einem Alkalimetall- oder Ammoniumsalz, davonumgesetzt werden, wobei man bei Verwendung der freien Säure vorzugsweise in Gegenwart eines säurebindenden Mittels arbeitet.

Die obigen Veresterungsreaktionen werden in einem inerten, üblicherweise wasserfreien Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch vorgenommen, beispielsweise in einem Carbonsäureamid, wie einem Formamid, z.B. Dimethylformamid, einem halogenierten Kohlenwasserstoff, z.B. Methylenchlorid, Tetrachlorkohlenstoff oder Chlorbenzol, einem Keton, z.B. Aceton, einem Ester, z.B. Essigsäureethylester, oder einem Nitril, z.B. Acetonitril, oder Mischungen davon, wenn notwendig unter Kühlen oder Erwärmen, z.B. in einem Temperaturbereich von etwa  $-40^{\circ}\text{C}$  bis etwa  $+100^{\circ}\text{C}$ , vorzugsweise bei etwa  $-10^{\circ}\text{C}$  bis etwa  $+40^{\circ}\text{C}$ , und/oder in einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre.

Ferner kann das Säurederivat, wenn erwünscht, in situ gebildet werden. So erhält man z.B. ein gemischtes Anhydrid durch Behandeln der Carbonsäureverbindung mit entsprechend geschützten funktionellen Gruppen oder eines geeigneten Salzes davon, wie eines Ammoniumsalzes, z.B. mit einem organischen Amin, wie Piperidin oder 4-Methylmorpholin, oder eines Metall-, z.B. Alkalimetallsalzes mit einem geeigneten Säurederivat, wie dem entsprechenden Säurehalogenid einer gegebenenfalls substituierten Niederalkancarbonsäure, z.B. Trichloracetylchlorid, mit einem Halbester eines Kohlensäure-halbhälogenis, z.B. Chlorameisensäurehalbester oder -isobutylester, oder mit einem Halogenid einer Diniederalkylphosphorsäure, z.B. Diethylphosphorbromidat, und verwendet das so erhältliche gemischte Anhydrid ohne Isolierung.

Zur Veresterung kann man die Hydroxygruppe durch Behandeln des Ausgangsmaterials der Formel (I) mit einem, den gewünschten

Acyrest einer organischen Carbonsäure einführenden Acylierungsmittel in eine Acyloxygruppe umwandeln. Dabei verwendet man die entsprechende Carbonsäure oder ein reaktionsfähiges Derivat davon, insbesondere ein Anhydrid, inkl. ein gemischtes oder inneres Anhydrid einer solchen Säure. Gemischte Anhydride sind z.B. diejenigen mit Halogenwasserstoffsäuren, d.h. die entsprechenden Säurehalogenide, insbesondere -chloride, ferner mit Cyanwasserstoffsäure, oder dann diejenigen mit geeigneten Kohlensäurehalbderivaten, wie entsprechenden -halbestern (wie die z.B. mit einem Halogen-ameisensäure-niederalkyl, wie Chlor-ameisensäure-athylester oder -isobutylester, gebildeten gemischten Anhydride) oder mit gegebenenfalls substituierten, z.B. Halogen, wie Chlor, enthaltenden Niederalkancarbonsäuren (wie die mit Pivalinsäurechlorid oder Trichloroessigsäurechlorid gebildeten gemischten Anhydride). Innere Anhydride sind z.B. diejenigen von organischen Carbonsäuren, d.h. Ketene, wie Keten oder Diketen, oder diejenigen von Carbamin- oder Thiocarbaminsäuren, d.h. Isocyanate oder Isothiocyanate. Weitere reaktionsfähige, als Acylierungsmittel verwendbare Derivate von organischen Carbonsäuren sind aktivierte Ester, wie geeignet substituierte Niederalkyl-, z.B. Cyanmethylester, oder geeignet substituierte Phenyl-, z.B. Pentachlorphenyl- oder 4-Nitrophenylester. Die Veresterung kann, wenn notwendig, in Gegenwart von geeigneten Kondensationsmitteln, bei Verwendung von freien Carbonsäuren, z.B. in Gegenwart von Carbodiimidverbindungen, wie Dicyclohexylcarbodiimid, oder Carbonylverbindungen, wie Diimidazolylcarbonyl, und bei Verwendung von reaktionsfähigen Säurederivaten z.B. in Gegenwart von basischen Mitteln, wie Triniederalkylaminen, z.B. Triethylamin, oder heterocyclischen Basen, z.B. Pyridin, durchgeführt werden. Die Acylierungsreaktion kann in Abwesenheit oder in Gegenwart eines Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches, unter Kühlen, bei Raumtemperatur oder unter Erwärmen, und, wenn notwendig, in einem geschlossenen Gefäß und/oder in einer Inertgas-, z.B. Stickstoffatmosphäre, durchgeführt werden. Geeignete Lösungsmittel sind z.B. gegebenenfalls substituierte, insbesondere gegebenenfalls chlorierte,



aliphatische, cycloaliphatische oder aromatische Kohlenwasserstoffe, wie Benzol oder Toluol, wobei man geeignete Veresterungsreagentien, wie Essigsäureanhydrid, auch als Verdünnungsmittel verwenden kann.

Eine durch eine organische Sulfonsäure, z.B. Niederalkan-sulfonsäure, wie Mathansulfonsäure, oder eine aromatische Sulfonsäure, wie p-Toluolsulfonsäure, veresterte Hydroxygruppe kann man vorzugsweise durch Behandeln des Ausgangsmaterials der Formel (I) mit einem reaktionsfähigen Sulfonsäurederivat, wie einem entsprechenden Halogenid, z.B. Chlorid, wenn notwendig, in Gegenwart eines Säure-neutralisierenden basischen Mittels, z.B. einer anorganischen oder organischen Base, z.B. in analoger Weise wie die entsprechenden Ester mit organischen Carbonsäuren, bilden.

In einer erhaltenen Verbindung der Formel (I), worin eine oder mehrere funktionelle Gruppen geschützt sind, können diese, z.B. geschützte Carboxyl-, und/oder Hydroxygruppen, in an sich bekannter Weise, mittels Solvolyse, insbesondere Hydrolyse, Alkoholyse oder Acidolyse, oder in einigen Fällen auch mittels vorsichtiger Reduktion, gegebenenfalls stufenweise oder gleichzeitig freigesetzt werden. Silylschutzgruppen werden vorteilhafterweise mit Fluoriden, z.B. Tetraethylammoniumfluorid, abgespalten.

Salze von Verbindungen der Formel (I) mit salzbildenden Gruppen können in an sich bekannter Weise hergestellt werden. So kann man Salze von Verbindungen der Formel (I) mit sauren Gruppen, z.B. durch Behandeln mit Metallverbindungen, wie Alkalimetallsalzen von geeigneten organischen Carbonsäuren, z.B. dem Natriumsalz der  $\alpha$ -Ethyl-capronsäure, oder mit anorganischen Alkali- oder Erdalkalimetallsalzen, z.B. Natriumhydrogencarbonat, oder mit Ammoniak oder einem geeigneten organischen Amin bilden, wobei man vorzugsweise stöchiometrische Mengen oder nur einen kleinen Ueberschuss des salzbildenden Mittels verwendet. Säureadditionssalze von Verbindungen der Formel (I) erhält man in üblicher Weise, z.B. durch Behandeln mit einer Säure oder einem

geeigneten Anionenaustauschreagens. Innere Salze von Verbindungen der Formel (I), welche z.B. eine freie Carboxylgruppe enthalten, können z.B. durch Neutralisieren von Salzen, wie Säureadditionssalzen, auf den isoelektrischen Punkt, z.B. mit schwachen Basen, oder durch Behandeln mit flüssigen Ionenaustauschern gebildet werden.

Salze können in üblicher Weise in die freien Verbindungen übergeführt werden, Metall- und Ammoniumsalze z.B. durch Behandeln mit geeigneten Säuren, und Säureadditionssalze z.B. durch Behandeln mit einem geeigneten basischen Mittel.

Die Komplexe der Verbindungen der Formel I, worin der Rest  $\text{COOR}^2$  eine freie Carboxylgruppe bedeutet, deren acides Proton gegebenenfalls abgespalten ist, werden z.B. hergestellt, indem man ein Salz des entsprechenden Schwermetalls, z.B. ein Halogenid, wie Chlorid, mit einer Verbindung der Formel I, worin der Rest  $\text{COOR}^2$  eine freie Carboxylgruppe bedeutet, oder mit einem geeigneten Salz dieser Säure, z.B. einem Alkalimetallsalz, wie Natrium- oder Kaliumsalz, vorteilhafterweise in einem polaren Lösungsmittel oder -gemisch, z.B. in wässriger oder alkoholischer, z.B. methanolischer, Lösung, die einen geeigneten pH-Wert hat, zusammenbringt. Die Reaktionstemperatur liegt normalerweise zwischen Schmelz- und Siedepunkt bei Normaldruck des verwendeten Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches, in der Regel zwischen  $15^\circ$  und  $50^\circ\text{C}$ , z.B. zwischen  $20^\circ$  und  $40^\circ\text{C}$ , z.B. bei  $37^\circ$ .

Da die erfindungsgemässen Komplexverbindungen sowohl unter stark sauren, z.B. bei  $\text{pH} = 1$ , als auch unter stark basischen, z.B. bei  $\text{pH} = 12$ , Bedingungen instabil sind, wird der pH-Wert der Reaktionslösung vorteilhafterweise zwischen 3 und 10, insbesondere zwischen 5 und 8, z.B. in Höhe eines physiologischen pH-Werts, wie 7,5, gehalten. Die genauen Grenzen des pH-Bereichs, bei dem die Komplexbildung möglich ist, hängen vor allem von der Art der Komplexbildungspartner, z.B. von der Art des Metallions und der Löslichkeit von dessen Hydroxid(en) ab. Unter den genannten optimalen Bedingungen läuft die

Komplexbildung sehr rasch ab, so dass sich das Gleichgewicht zwischen dem Komplex und den Ausgangsstoffen innerhalb von wenigen Minuten oder Stunden einstellt.

Gemische von Isomeren können in an sich bekannter Weise, z.B. durch fraktionierte Kristallisation, Chromatographie etc. in die einzelnen Isomeren aufgetrennt werden.

Racemate können in an sich bekannter Weise, z.B. nach Ueberführung der optischen Antipoden in Diastereomere, beispielsweise durch Umsetzung mit optisch aktiven Säuren oder Basen, gespalten werden.

Die Erfindung betrifft auch diejenigen Ausführungsformen des Verfahrens, bei denen man von einer auf irgendeiner Stufe als Zwischenprodukt erhältlichen Verbindung ausgeht und die fehlenden Schritte durchführt oder man das Verfahren auf irgendeiner Stufe abbricht oder man eine nach dem erfindungsgemässen Verfahren erhältliche Verbindung unter den Verfahrensbedingungen erzeugt und in situ weiterverarbeitet.

Die Ausgangsstoffe sind im Handel erhältlich und/oder bekannt oder können nach bekannten Verfahren hergestellt werden.

Neue Ausgangsstoffe und/oder Zwischenprodukte sowie Verfahren zu ihrer Herstellung sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung. Vorzugsweise werden solche Ausgangsstoffe verwendet und die Reaktionsbedingungen so gewählt, dass man zu den in dieser Anmeldung als besonders bevorzugt aufgeführten Verbindungen gelangt.

Die pharmakologisch verwendbaren Verbindungen der vorliegenden Erfindung können z.B. zur Herstellung von pharmazeutischen Präparaten verwendet werden, welche eine wirksame Menge der Aktivsubstanz zusammen oder im Gemisch mit anorganischen oder organischen, festen oder flüssigen, pharmazeutisch verwendbaren Trägerstoffen enthalten.

Bei den erfindungsgemässen pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen, wie oralen, sowie parenteralen, wie subcutanen, Verabreichung an Warmblüter, welche den pharmakologischen Wirkstoff allein oder zusammen mit einem pharmazeutisch anwendbaren Trägermaterial enthalten. Die Dosierung des Wirkstoffes hängt von der Warmblüter-Spezies, dem Alter und dem individuellen Zustand, der zu behandelnden Krankheit sowie von der Applikationsweise ab.

Die neuen pharmazeutischen Präparate enthalten von etwa 10% bis etwa 95%, vorzugsweise von etwa 20% bis etwa 90% des Wirkstoffes. Erfindungsgemässe pharmazeutische Präparate können z.B. in Dosis-einheitsform, wie Dragées, Tabletten, Kapseln, Suppositorien oder Ampullen, vorliegen.

Die pharmazeutischen Präparate der vorliegenden Erfindung werden in an sich bekannter Weise, z.B. mittels konventioneller Misch-, Granulier-, Dragier-, Lösungs- oder Lyophilisierungsverfahren, hergestellt. Pharmazeutische Präparate zur oralen Anwendung können erhalten werden, indem man den Wirkstoff mit festen Trägerstoffen kombiniert, ein erhaltenes Gemisch gegebenenfalls granuliert und das Gemisch bzw. Granulat, wenn erwünscht oder notwendig nach Zugabe von geeigneten Hilfsstoffen, zu Tabletten oder Dragée-Kernen verarbeitet. Dabei kann man sie auch in Kunststoffträger einbauen, die die Wirkstoffe dosiert abgeben oder diffundieren lassen.

Geeignete Trägerstoffe sind insbesondere Füllstoffe, wie Zucker, z.B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit, Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate, z.B. Tricalciumphosphat oder Calciumhydrogenphosphat, ferner Bindemittel, wie Stärkekleister unter Verwendung z.B. von Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Traganth, Methylcellulose, Hydroxypropyl-methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon, und/oder, wenn erwünscht, Sprengmittel, wie die obgenannten Stärken, ferner Carboxy-

methylnstärke, quervernetztes Polylvinylpyrrolidon, Agar, Alginsäure oder ein Salz davon, wie Natriumalginat. Hilfsmittel sind in erster Linie Fließregulier- und Schmiermittel, z.B. Kieselsäure, Talk, Stearinsäure oder Salze davon, wie Magnesium- oder Calciumstearat, und/oder Polyäthylenglykol. Dragée-Kerne werden mit geeigneten, gegebenenfalls magensaftresistenten Überzügen versehen, wobei man u.a. konzentrierte Zuckerlösungen, welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyäthylenglykol und/oder Titandioxid enthalten, Lacklösungen in geeigneten organischen Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen oder, zur Herstellung von magensaftresistenten Überzügen, Lösungen von geeigneten Cellulosepräparaten, wie Acetylcellulosephthalat oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, verwendet. Den Tabletten oder Dragée-Überzügen können Farbstoffe oder Pigmente, z.B. zur Identifizierung oder zur Kennzeichnung verschiedener Wirkstoffdosen, beigelegt werden.

Die folgenden Beispiele dienen zur Illustration der Erfindung. Temperaturen werden in Celsiusgraden angegeben.

Allgemeines: Smp. in offener Kapillare bestimmt, nicht korrigiert.

UV: Perkin-Elmer-Spektrometer 402;

Angaben von  $\lambda_{\max}$  in nm ( $\log \epsilon$ ).

IR: Perkin-Elmer-Spektrometer 157-G; Angaben in  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{HMR}$ : Varian-Spektrometer HA-100 (100 MHz); chemische Verschiebungen in  $\delta$ [ppm] gegenüber Tetramethylsilan (TMS).

$^{13}\text{C-NMR}$ : Varian-Spektrometer XL-100 (25,3 MHz); chemische Verschiebungen in  $\delta$ [ppm] gegenüber TMS (in Klammern Aufspaltung im off-resonance-Spektrum).

MS: Intensität in % des Basispeaks.

DC: Kieselgel-60-Fertigplatten F<sub>254</sub> Merck; die Lokalisierung der Flecken erfolgte im allgemeinen durch Betrachten im UV-Licht oder Entwicklung im Joddampf.

Beispiel 1: Der Stamm *Streptomyces antibioticus* Tü 1998 wird im 10 l Fermenter (New Brunswick, Modell F 14) 90 Stunden bei 27°, 4 l Luft/Min. und 220 U/Min. auf der folgenden Nährlösung angezogen: 2% vollfettes Sojamehl und 2% Mannit in Wasser, pH der Nährlösung vor dem Sterilisieren mit Natronlauge auf pH 7,5 gebracht. Als Impfmateriale dienen 5% einer 48 Stunden alten Vorkultur, die auf der gleichen Nährlösung angezogen wird. Zur Aufarbeitung werden die Kulturen bei unverändertem pH mit 12 g Eisen-(III)-chlorid Hexahydrat versetzt und unter Zusatz von 1,5% Celit filtriert. Das Filtrat wird mit Natronlauge auf pH 7 eingestellt, mit Kochsalz gesättigt und 4mal mit 2,5 l Essigester extrahiert. Die Extrakteengt man im Vakuum zum braunen Sirup ein, löst diesen in 50 ml Wasser und extrahiert zur Entfernung lipophiler Bestandteile 4mal mit Methylenchlorid. Die wässrige Phase wird im Vakuum zum trockenen Pulver eingeengt, dieses in 10 ml Chloroform/Methanol 1:1 gelöst und an Sephadex LH 20 chromatographiert. Die gemäss DC einheitlichen Fraktionen ergeben den Eisenkomplex von 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carboxylat (Ferrithiocin) als dunkelbraun-rotes Pulver.

Zur Analyse wird das amorphe Pulver aus Methanol/Acetonitril/Toluol zu kleinen, verfilzten Nadeln kristallisiert. Smp. 160° (Zers.). DC: Rf 0,27 in Chloroform/Methanol/Wasser 65:25:4...  $[\alpha]_D = 578^\circ$  ( $c = 6,4 \cdot 10^{-3}$  in  $H_2O$ ). UV ( $c = 1\%$ ,  $H_2O$ ) 207 (2,82), 227 Sch. (2,71), 268 Sch. (2,4), 325 (2,48), 405 (2,04), 460 Sch. (1,9).

47,5 mg des erhaltenen Ferrithiocins löst man in 2 ml  $H_2O$ , stellt mit 1 N NaOH auf pH 10 ein und tropft eine gesättigte, wässrige  $KMnO_4$ -Lösung so langsam dazu, dass stets nur eine schwache Violett-färbung vorhanden ist. Sobald das Ausgangsprodukt vollständig (DC) umgesetzt ist, filtriert man vom Braunstain und Eisenhydroxid ab und extrahiert 2mal mit 10 ml  $CHCl_3$ . Die Extrakte liefern nach dem Einengen im Vakuum weisses rohes 3-Hydroxy-2-(4'-methyl-thiazol-2'-yl)-pyridin, das aus Aceton/Wasser zu farblosen Nadeln kristallisiert.

DC: Rf 0,41 in  $\text{CHCl}_3$ . Smp.  $115^\circ$ .

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1580, 1525, 1450, 1025.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2,48 (s; 3H), 6,94 (s; 1H), 7,1-7,46 (m; 2H), 8,15 (dd,  $J_1=2\text{Hz}$ ),  $J_2=4\text{Hz}$ ; 1H), 12,02 (br. s, -OH).

MS: u.a. 194 (6), 193 (14), 192, 0357 ( $\text{M}^+$ , ber. für  $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{OS}$ : 192, 0357, 100), 164 (22), 72 (33), 57 (26).

Beispiel 2: Zu 97 mg Ferrithiocin werden 3 ml 1 N NaOH gegeben, mit Hilfe von Celit vom ausgeschiedenen Eisenhydroxid abfiltriert und das Filtrat bei  $0^\circ$  mit konz. Salzsäure auf pH 3 eingestellt. Dabei kristallisiert 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure in schwefelgelben Nadeln aus, die mit eiskaltem Wasser gewaschen werden. Eine Analysenprobe wird aus heissem Wasser/Methanol umkristallisiert.

DC: Rf 0,17 in  $\text{CHCl}_3$ /Methanol/Wasser 65:25:4,

Smp.  $90-92^\circ$ ,  $\alpha_D = +30,1^\circ$  ( $n = 1,01$ , Methanol).

UV ( $\text{H}_2\text{O}$ ): 200 (4,18), 235 Sch. (3,73), 308 (3,79), 382 (3,33).

$^1\text{H-NMR}$  (100 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 1,61 (s; 3H), 3,30 (d,  $J = 12\text{Hz}$ , 1H), 3,75 (d,  $J = 12\text{Hz}$ , 1H), 7,45 d,  $J = 3\text{Hz}$ ; 2H), 8,18 (t,  $J = 3\text{Hz}$ ; 1H), 12-14 (br., 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (25 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 25,5 (q), 40,7 (t), 87,3 (s), 126,0 (d), 128,1 (d), 135,3 (s), 141,1 (d), 156,7 (s), 172,8 (s), 180,0 (s).

MS: u.a. 240 ( $\text{M}^+ + 2,3$ ), 238,0404 ( $\text{M}^+$  ber. für  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ : 238,0412, 26), 193 (82), 121 (19), 92 (86), 91 (100), 65 (27), 39 (26).

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (256,05) Ber. C 46,86 H 4,72 N 10,93 S 12,53

Gef. C 46,58 H 4,77 N 10,74 S 12,51.

Aus 124 mg Ferrithiocin wird wie oben beschrieben 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure hergestellt und diese während 1 Stunde bei  $90^\circ$  in 2 ml 6N Salzsäure unter Stickstoffatmosphäre hydrolysiert. Der Eindampfrückstand enthält gemäss DC in Chloroform/Methanol/Wasser 65:25:4 2 Hauptprodukte mit Rf 0,17 (Joddampf und Nitroprussid - Na positiv, charakteristisch für -SH Verbindungen [s. Tonnies und J.J. Kolb, Anal. Chemistry 23, 823

(1951)] und Rf 0,32 [Fluoreszenzlösung]. Das letztere kann durch präp. DC im gleichen Laufmittelsystem rein dargestellt werden: 3-Hydroxy-picolinsäure in Form eines farblosen Pulvers mit Smp. 219-223° (Zers.).

IR (KBr): 3430 br., 1635, 1605, 1455.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): 7,9 (br., 2 H), 8,18 (br., 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD): 129,0 (d), 130,7 (d), 134,0 (s), 139,0 (d), 160,1 (s), 173,0 (s).

MS.: u.a. 139 (M<sup>+</sup>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>3</sub>, 9), 121 (7), 95 (100), 93 (15), 67 (19), 44 (54).

Die Verbindung wird in 2 ml absolutem Dimethylformamid gelöst und unter Zusatz von 2 Tropfen BF<sub>3</sub>-Etherkomplex mit etherischer Diazomethanolösung methyliert. Dann wird mit 10 ml H<sub>2</sub>O verdünnt und 2mal mit Essigester extrahiert. Die Extrakte werden mit H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand kristallisiert aus Essigester/Hexan in farblosen Nadeln mit Smp. 72-73°. Die Verbindung erweist sich im direkten Vergleich (Mischsmp., DC, IR und <sup>1</sup>H-NMR) als identisch mit einer authentischen Probe von 3-Hydroxy-picolinsäuremethylester.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 4,02 (s, 3H), 7,3-7,45 (m, 2H), 8,18-8,32 (m, 1H), 10,58 (s, 1H).

MS : u.a. 153 (M<sup>+</sup>, C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>, 84), 123 (73), 95 (95), 93 (100).

40 mg (0,168 mMol) 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure werden wie oben beschrieben hydrolysiert und der Eindampfrückstand in Pufferlösung pH 5 (Pyridin/Eisessig 65:35 v:v je 0,1 M) an CM Sephadex C-25 chromatographiert. Die einheitlichen mit Nitroprussid-Na anfärbbaren Fraktionen werden im Vakuum eingeengt und in absolutem Dimethylformamid unter Zusatz von BF<sub>3</sub>-Etherkomplex mit etherischer Diazomethanolösung methyliert. Das Rohprodukt wird mit Essigester ausgeschüttelt, die Extrakte mehrfach mit H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft, worauf man N-Formyl-2-methyl-cysteinmethylester als farbloses Öl erhält. DC: Rf 0,41 in CHCl<sub>3</sub>/Essigester 1:1 (mit Spuren von Verunreini-



gungen).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3390, 2850, 1735, 1690.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1,35 (dd,  $J_1 = 8$  Hz,  $J_2 = 10$  Hz; 3H), 1,67 (s; 3H), 2,96 (dd,  $J_1 = 10$  Hz,  $J_2 = 14$  Hz; 1H), 3,55 (dd,  $J_1 = 8$  Hz,  $J_2 = 14$  Hz; 1H), 3,78 (s; 3H), 6,6 (br., 1H), 8,17 (d,  $J = 2$  Hz, 1H).

Bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  verschwinden die Signale bei 1,35 und 6,6 ppm, die Doppeldubletten werden zu Dubletten mit  $J = 14$  Hz und das Dublett bei 8,17 ppm zum Singulett.

MS: u.a. 178 ( $[\text{M}^+ + 1]^+$ ,  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{S}$ , 1), 146 (3), 132 (100), 118 (21), 102 (29), 100 (62), 73 (22), 42 (54).

Beispiel 3: 70 mg (0,294 mmol) 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure versetzt man während 20 Min. bei  $0^\circ$  in Methanol/Wasser mit etherischer Diazomethanlösung. Eindampfen im Vakuum, Ausschütteln mit  $\text{CHCl}_3$  aus  $\text{H}_2\text{O}$  und präp. DC (Kieselgel, Chloroform/Methanol 40:1) ergeben 2-(3-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-carbonsäuremethylester als blassgelbes Öl.

DC: Rf 0,79 in Chloroform/Methanol 40:1.

UV (Ethanol): 210 (4,22), 238 (3,82), 313 (4,01).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1735, 1590, 1450, 980

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CHCl}_3$ ):  $\delta$  = 1,68 (s; 3H), 3,18 (d,  $J = 12$  Hz; 1H), 3,77 (s; 3H), 3,80 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 7,18-7,4 (m; 2H), 8,1-8,25 (m, 1H), 12,0 (br.s. OH).

MS: u.a. 252 ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ , 24), 193 (100), 165 (4), 121 (14), 73 (23).

Beispiel 4: 45 mg (0,189 mmol) 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure werden bei Raumtemperatur in Methanol/Wasser bis zur bleibenden Gelbfärbung mit etherischer Diazomethanlösung behandelt. Eindampfen im Vakuum, Ausschütteln mit  $\text{CHCl}_3$  aus  $\text{H}_2\text{O}$  und Chromatographieren an Sephadex LH 20 mit Chloroform/Methanol 1:1 liefern 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäuremethylester als farbloses Öl.

DC: Rf 0,83 in Chloroform/Methanol/Wasser 65:25:4.

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 1730, 1600, 1580, 1465, 1430, 960.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1,66 (s; 3H), 3,17 (d, J = 12 Hz; 1H), 3,74 (d, J = 12 Hz; 1H), 3,77 (s; 3H), 3,88 (s; 3H), 7,32 (d; J = 3 Hz, 2H), 8,23 (t, J = 3 Hz; 1H).

MS: u.a. 266 ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ , 10), 219 (12), 207 (100), 192 (25), 166 (10), 135 (28), 73 (22).

Beispiel 5: Der Stamm *Streptomyces antibioticus* Tü 1998 (DSM 1865) wird während 6 Tagen bei 28°C auf einem Agarmedium der folgenden Zusammensetzung gezogen:

Hefe-Extrakt (Difco)	4 g/l
Malz-Extrakt (Difco)	5 g/l
Glucose	4 g/l
Agar (Difco)	20 g/l

Ein 500 ml Erlenmeyer-Kolben ohne Schikane mit 100 ml einer Nährlösung bestehend aus 2% vollfettem Sojamehl und 2% Mannit, pH 7,5, wird mit der erhaltenen Schrägeröhrchenkultur angeimpft und während 48 Stunden auf einer Schüttelmaschine mit 250 Umdrehungen pro Minute und 50 mm Auslenkung bei 28°C inkubiert.

Die zweite Vorkulturstufe wird im Erlenmeyer-Kolben von 2 l Inhalt mit 4 Schikanen durchgeführt. Diese Kolben werden mit 500 ml der oben beschriebenen Sojamehl-Mannit-Nährlösung und mit 2,5% (V/V) Impfmateriail aus der ersten Schüttelkolben-Kultur beschickt. Die Bebrütung erfolgt auf einer Schüttelmaschine mit 50 mm Auslenkung und 120 Umdrehungen pro Minute bei 28°C. Nach 48 Stunden zeigt diese Vorkultur einen pH-Wert von 6,7 und wird in einer Konzentration von 5% (V/V) für die Beimpfung eines 50 l Fermenters mit 30 l frischer Sojamehl-Mannit-Nährlösung verwendet.

Ein Kleinfermenter mit 50 l Fassungsvermögen, ausgerüstet mit 4 Schikanen und einem sechsblättrigen Rührer mit einem Durchmesser von 115 mm wird mit 30 l des oben beschriebenen flüssigen Nährmediums beschickt und bei 134°C sterilisiert. Nach Zugabe von 1,5 l Impfmateriail aus der Erlenmeyer-Kolben-Kultur werden während 48 Stunden die folgenden Fermentationsbedingungen eingehalten:

Rührung:	600 Umdrehungen pro Minute
Ueberdruck:	0,5 bar
Belüftung:	1 l Luft pro 1 l Kulturbrühe in der Minute
Temperatur:	28°C.

Nach 48 Stunden erreicht die Kulturlösung einen pH-Wert von 6,4 und eine zentrifugierbare Zellmasse von 23% (V/V) und wird für die Beimpfung eines Produktionsfermenters eingesetzt.

Für Produktionsansätze wird ein Fermenter mit 500 l Inhalt verwendet, welcher mit 4 Schikanen und einem 6blättrigen Turbinenrührer mit 230 mm Durchmesser ausgerüstet ist. 300 l derselben Nährlösung wie in den Vorkulturen werden im Fermenter sterilisiert und mit 15 l Vorkultur aus dem Kleinfermenter beimpft. Es werden die folgenden Fermentationsbedingungen eingehalten:

Rührung: 400 Umdrehungen pro Minute  
Ueberdruck, Belüftung und Temperatur: analog wie im Kleinfermenter.

Nach 77 Stunden wird die maximale Produktion von 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure (Salz) erreicht, worauf die Fermentation abgebrochen wird. Zu diesem Zeitpunkt weist die Kulturlösung einen pH-Wert von 6,6 und ein zentrifugierbares Mycelvolumen (p.m.v.) von 24% (V/V) auf. Zur Aufarbeitung wird das Zellmaterial durch Filtration durch eine Filterpresse unter Zusatz von 2% Decalite als Filterhilfsmittel abgetrennt und mit wenig Wasser nachgewaschen. Aus 2 Parallelansätzen werden 630 l Kulturfiltrat erhalten.

600 l bestehend aus erhaltenem Kulturfiltrat und einer Waschlösung werden mit 600 g Eisen(III)-chlorid Hexahydrat versetzt und nach Einstellung des pH-Wertes auf 7,0 im Zirkularverdampfer bei reduziertem Druck auf ein Volumen von 70 l konzentriert. Nach Ansäuern auf pH 2,5 wird ein braunrot gefärbter Niederschlag durch Filtration abgetrennt. Das klare Filtrat wird auf eine Säule gegeben, welche 70 l des makroretikulären Harzes XAD-2 (Firma ROHM und HAAS) enthielt. Nach Adsorption mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 70 l/Std. wird mit 140 l deionisiertem Wasser nachgewaschen. Die Waschung und die nachfolgende Elution mit 50%igem wässrigem 2-Propanol erfolgen mit einer auf 100 l/Std. erhöhten Durchflussgeschwindigkeit. Die ersten 60 l eines praktisch farblosen Eluats werden verworfen. 220 l Eluat mit rotbrauner Färbung werden bei reduziertem Druck konzentriert und lyophilisiert, wobei 22,5 g Rückstand erhalten werden.

Der obige Rückstand und der abfiltrierte Niederschlag (166 g) werden in 3 Portionen in 1molarem Phosphatpuffer mit pH 8,8 gelöst (total 4 l). Der pH-Wert wird durch Zugabe von 2 N Natronlauge auf 8,0 gestellt. Nach Sättigung mit Kochsalz wird mehrmals mit Methylenchlorid extrahiert, bis die wässrige Phase keine rote Färbung mehr enthält. Die organische Phase wird mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft.

Der erhaltene durchkristallisierte Rückstand (56,6 g) wird in 350 ml Methanol gelöst und auf eine mit 1500 g Sephadex LH-20 in Methanol gepackte Säule (7 x 160 cm) gegeben. Die Elution erfolgt mit Methanol mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 1 l/Std. Im ersten Eluatvolumen von 3 l werden 27,9 g gelber Feststoff abgetrennt, die folgenden 0,65 l enthalten 6,05 g farbloses Öl. Die anschliessenden 5 Fraktionen von je 0,25 l enthalten Ferrithiocin, welches mit einem öligen Nebenprodukt verunreinigt ist. Reines Ferrithiocin wird in den folgenden 10 Fraktionen von total 2,5 l eluiert und nach dem Eindampfen in kristalliner Form erhalten. Die weitere Reinigung der mit Öl verunreinigten Fraktionen ergibt zusätzlich dünnschichtchromatographisch einheit-

liches Ferrithiocin.

Für die dünnenschichtchromatographische Charakterisierung werden MERCK Kieselgelplatten mit 0,25 mm Schichtdicke verwendet. Laufmittelsysteme: Chloroform/Methanol 4:1; Chloroform/Methanol/Wasser 130:50:8. Nachweis der roten Eigenfärbung, im UV-Licht oder durch Anfärbung mit Jod.

1 g reines Ferrithiocin wird mit 30 ml eisgekühlter 1 N Natronlauge versetzt. Das ausgeschiedene Eisenhydroxid wird nach Zugabe von Filterhilfsmittel (Hyflo) durch Filtration abgetrennt und mit wenig Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird bei 0° durch vorsichtige Zugabe von conc. Salzsäure auf einen pH-Wert von genau 3,0 eingestellt. Die ausgefallenen gelben Kristalle werden nach 1 Stunde bei 0° abfiltriert, mit wenig Eiswasser gewaschen und bei Raumtemperatur im Hochvakuum getrocknet, wobei 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure in Form von hellgelben feinen verfilzten Nadeln erhalten werden. Die lyophilisierten Mutterlaugen werden in warmem Wasser gelöst und mit Methanol versetzt, wobei weitere 50 mg leicht rötlich gefärbtes Produkt anfallen. Die Kristalle aus der ersten Fraktion werden während 24 Std. bei Raumtemperatur über Phosphorpentoxid getrocknet: Smp. 115-166°;  $[\alpha]_D^{20} + 32^\circ \pm 1^\circ$  (c = 0,715% in Methanol).

Beispiel 6: 2,283 g (13 mmol) L-Cysteinhydrochlorid Monohydrat (FLUKA puriss.) werden unter Stickstoffspülung in 45 ml entgastem dest. Wasser gelöst und mit ca. 10 ml einer 2 N Natronlauge auf pH 8 gestellt. Hierauf gibt man unter Rühren eine Lösung von 1,2 g (10 mmol) 3-Hydroxypicolinsäurenitril in 70 ml Methanol (MERCK p.A.) zu. Nach 1 1/2 Stunden Reaktionsdauer bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre und Lichtausschluss wird mit 10 ml 2 N Salzsäure angesäuert. Das Reaktionsgemisch wird während 4 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Der ausgefallene schwach gelbe Niederschlag wird unter einer Stickstoffatmosphäre abfiltriert, mit wenig eisgekühltem 50%igem wässrigem Methanol gewaschen und im Hochvakuum unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur getrocknet.

Das Filtrat wird im Vakuum konzentriert und lyophilisiert. Der erhaltene Rückstand wird möglichst konzentriert in 50%igem wässrigem Methanol gelöst. Beim Stehenlassen über Nacht im Kühlschrank bildet sich ein etwas stärker gelb gefärbter Niederschlag der 2-(3'-Hydroxypyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure, welcher in der oben beschriebenen Weise abfiltriert und getrocknet wird.

Das eingesetzte 3-Hydroxy-picolinsäurenitril wird nach einer Vorschrift von Niels Clauson-Kaas und Mitarbeitern aus Furfural hergestellt (Acta Chemica Scandinavica 19, 1965, 1147-1152).

Beispiel 7: Die isomere 2-(3'-Hydroxypyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure wird durch analoge Umsetzung wie im Beispiel 6 beschrieben von 0,526 g (4,4 mmol) 3-Hydroxy-picolinsäurenitril mit 1,0 g (5,7 mmol) D-Cysteinhydrochlorid-Monohydrat (FLUKA puriss.) erhalten.

Beispiel 8: In analoger Weise wie im Beispiel 6 beschrieben werden 2,05 g (13 mmol) D,L-Cysteinhydrochlorid (purum, FLUKA) mit 1,2 g (10 mmol) 3-Hydroxy-picolinsäurenitril umgesetzt, wobei in guter Ausbeute die optisch inaktive 2-(3'-Hydroxypyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure erhalten wird.

Beispiel 9: 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure wird durch Umsetzung von 3-Methoxy-picolinsäurenitril mit 1,3 Mol-Äquivalenten D,L-Cysteinhydrochlorid gemäss Beispiel 8 erhalten. 3-Methoxy-picolinsäurenitril wird durch Zugabe einer ätherischen Diazomethanlösung im Überschuß zu einer methanolischen Lösung von 3-Hydroxy-picolinsäurenitril bei Raumtemperatur hergestellt. Nach Stehenlassen über Nacht wird das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockene eingedampft und ohne weitere Reinigung für die obige Umsetzung verwendet.

Beispiel 10: Analog zu Beispiel 6 wird 1 g (5,83 mMol)  $\alpha$ -Methyl-D,L-Cystein-Hydrochlorid mit 0,585 g (4,86 mMol) 3-Hydroxy-picolinsäurenitril umgesetzt. Die mit 2 N Salzsäure angesäuerte Reaktionslösung wird nach 1 Stunde bei Raumtemperatur bei reduziertem Druck vom Methanol befreit und auf eine Säule mit 200 ml XAD-2 Harz der Firma ROHM und HAAS gegeben. Man eluiert nacheinander mit dest. Wasser, 10%igem wässrigem Isopropanol und 50%igem wässrigem Isopropanol. Durch Konzentration des Eluats bei reduziertem Druck und Lyophilisation des wässrigen Rückstandes erhält man 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure.

Die Herstellung von  $\alpha$ -Methyl-cystein ist in der Ph.D. Dissertation von John F.G. Diederich, University of Windsor, Canada (1966) beschrieben. Siehe auch R. Thiberk, J.F.G. Diederich und K.G. Rutherford, Can. J. Chem. 43, 206 (1965).

Analog erhält man, jeweils ausgehend von einem der optischen Antipoden des  $\alpha$ -Methyl-D,L-cysteins, die durch Racematspaltung in an sich bekannter Weise zugänglich sind, (D)- bzw. (L)-2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure.

Beispiel 11: 0,24 g (1 mMol) 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure werden mit 0,485 g (1,5 mMol) N,N'-Dicyclohexyl-O-(2-trimethylsilylethyl)-isoharnstoff und 5 ml abs. Dioxan während 14 Stunden auf 50°C erwärmt. Nach dem Abkühlen im Kühlschrank wird der ausgefallene N,N'-Dicyclohexyl-harnstoff abfiltriert. Das Filtrat wird zur Trockene eingedampft und der Rückstand durch Chromatographie an Kieselgel unter Verwendung von Chloroform mit zunehmendem Gehalt an Methanol gereinigt. Die dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Fraktionen werden vereinigt und zur Trockene eingedampft, worauf man 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure- $\beta$ -(trimethylsilyl)-ethylester erhält.

Den als Reagenz verwendeten N,N'-Dicyclohexyl-O-(2-trimethylsilyl-ethyl)-isoharnstoff erhält man folgendermassen:

Ein Gemisch von 780 mg (3,79 mMol) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, 0,6 ml (4,17 mMol; 1,1 Äquivalent) 2-Trimethylsilylethanol und 60 mg Kupfer(I)chlorid wird während 105 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt, mit 3 ml Petrolether verdünnt und über eine Säule von neutralem Aluminiumoxid (unter Nachwaschen mit Petrolether) filtriert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels bleibt das genannte Isoharnstoffderivat als schwach grünliches Öl zurück. Eine kleine Probe dieses Materials destilliert im Kragenkolben bei ca. 125°/0,09 Torr (Badtemperatur).

Beispiel 12: 0,41 (1,2 mMol) des rohen, amorphen  $\beta$ -Trimethylsilylethylesters, welcher nach der im Beispiel 11 beschriebenen Methode erhalten wird, wird in 5 ml abs. Tetrahydrofuran unter Stickstoffatmosphäre gelöst und auf -78°C abgekühlt. Unter gutem Rühren versetzt man langsam mit 2,9 ml einer frisch aus n-Butyllithium und N-Isopropyl-cyclohexylamin zubereiteten Lösung von Lithium-N-isopropylcyclohexylamid (1,3 mMol) in abs. Tetrahydrofuran. Nach 10 Min. Reaktionsdauer bei -78°C gibt man 2 ml einer 30%igen Lösung (G/V) von Methyljodid in abs. Tetrahydrofuran zu und lässt die Reaktionslösung langsam auf -25°C aufwärmen. Hierauf verdünnt man mit 50 ml Methylenchlorid und 30 ml kaltem 1 M Phosphatpuffer von pH 5.0. Die abgetrennte organische Phase wird mit frischem Phosphatpuffer und mit wässriger Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und bei reduziertem Druck zur Trockene eingedampft. Nach Reinigung des amorphen Rohproduktes durch Chromatographie an einer Säule aus 100 g säuregewaschenem Kieselgel, wobei Methylenchlorid mit steigenden Zusätzen an Isopropanol für die Elution verwendet wird, erhält man 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure-( $\beta$ -trimethylsilyl-ethyl)-ester.

Beispiel 13: 0,53 g (1,5 mMol) des nach Beispiel 12 erhaltenen, dünn-schichtchromatographisch einheitlichen amorphen 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure-( $\beta$ -trimethylsilyl-ethyl)-esters werden mit 6 ml einer 0,5 N Lösung von Tetraethylammonium-



fluorid in abs. Dimethylformamid gelöst und während 1 Stunde auf 30°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird hierauf mit 30 ml eines 2 M Phosphatpuffers von pH 4,0 verdünnt und auf eine mit 400 ml XAD-2 Harz beschickte Säule gegeben. Die Säule wird nacheinander mit dest. Wasser, 10%igem wässrigem Isopropanol und zuletzt mit 50%igem wässrigem Isopropanol eluiert. Der Verlauf einer Elution wird durch Messung der Leitfähigkeit und der UV-Absorption bei 254 nm in Durchflussszellen kontrolliert. Die Fraktionen, welche das gewünschte Produkt enthalten, werden bei reduziertem Druck konzentriert und lyophilisiert. Die Rückstände werden dünnenschichtchromatographisch auf Kieselgelplatten analysiert (Lösungsmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65:25:4). Die einheitlichen Fraktionen werden in absolutem Dioxan aufgenommen und vereinigt. Nach deren Lyophilisation erhält man 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure.

Beispiel 14: Herstellung von 1000 Kapseln mit 260 mg der aktiven Ingredienzen pro Kapsel:

Zusammensetzung

2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure	260 g
Talk	36 g
Weizenstärke	24 g
Magnesiumstearat	16 g
Laktose	<u>4 g</u>
	340 g

Zubereitung: Die pulverförmigen Substanzen werden durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 0,6 mm geschlagen und gründlich gemischt. Mit je 340 g dieser Mischung werden mit einer Kapselfüllmaschine Gelatine-Kapseln bereitet.

0045281

- 49 -

Beispiel 15: Herstellung von 1000 Kapseln enthaltend 105 mg der aktiven Stoffe pro Kapsel:

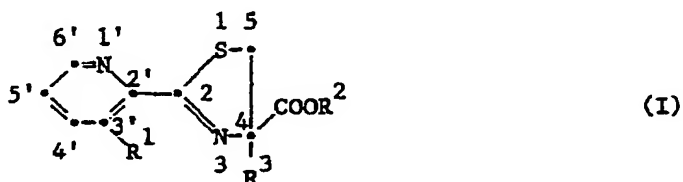
Zusammensetzung

2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure	105 g
Aethyl-Cellulose	3 g
Stearinsäure	<u>3 g</u>
	111 g

Zubereitung: Die Aethyl-Cellulose und die Stearinsäure werden in 120 ml Methylenchlorid gelöst, mit dem Antibiotikum versetzt, und die Masse wird durch ein Sieb von 0,6 mm Maschenweite bei einer Temperatur von ca. 40° geschlagen, wobei das Methylenchlorid verdampft. 156 mg des erhaltenen Granulates werden in Gelatine-Kapseln zu 0,5 ml mit Hilfe einer Kapsel-Abfüllmaschine abgefüllt.

Patentansprüche (für alle benannten Länder ausser Oesterreich)

1. 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure-Derivate der Formel (I),



in racemischer oder optisch aktiver Form, worin  $R^1$  für freies, verethertes oder verestertes Hydroxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder einen aliphatischen, carbocyclischen oder carbocyclisch-aliphatischen Rest mit 1-12 C-Atomen und  $R^3$  für Wasserstoff oder einen unsubstituierten aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen stehen, und Salze dieser Verbindungen und Metallion-Komplexe solcher Verbindungen, worin der Rest  $-COOR^2$  eine freie Carboxygruppe bedeutet, deren acides Proton gegebenenfalls abgespalten ist.

2. Verbindungen der Formel (I) gemäss Anspruch 1, worin  $R^1$  für freies Hydroxy, Hydrocarbyloxy, Hydrocarbylcarbonyloxy oder Hydrocarbyloxycarbonyloxy steht, wobei Hydrocarbyl einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen, einen cycloaliphatischen Rest mit 5 oder 6 Ringgliedern, einen Phenylrest oder einen durch mindestens einen solchen cycloaliphatischen Rest oder Phenylrest substituierten aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen bedeutet, oder worin  $R^1$  für monocyclisches fünf- oder sechsgliedriges Heterocyclyloxy mit einem Stickstoff-, Sauerstoff- oder Schwefelatom als Ringglied oder für monocyclisches aromatisches oder niederaliphatisches Sulfonyloxy steht, worin  $R^2$  für Wasserstoff, einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen, einen cycloaliphatischen Rest mit 5 oder 6 Ringgliedern, einen Phenylrest oder einen aliphatischen Rest mit 1-7 C-Atomen steht, der durch mindestens einen solchen cycloaliphatischen Rest oder Phenylrest substituiert ist, und worin  $R^3$  Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet, und Salze dieser Verbindungen und Schwermetallion-Komplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.

3. Verbindungen der Formel (I) gemäss Anspruch 1, worin  $R_1$  freies Hydroxy, Alkoxy mit 1-12 C-Atomen, monocyclisches aromatisches Sulfonyloxy, Niederalkylsulfonyloxy, Hydrocarbylcarbonyloxy oder Hydrocarbyloxycarbonyloxy bedeutet, wobei Hydrocarbyl für Niederalkyl, Cycloalkyl mit 3-8 C-Atomen, einen monocyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffrest oder für Phenylniederalkyl steht, und worin  $R^2$  einen solchen Hydrocarbylrest oder Wasserstoff und  $R^3$  Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet, und Salze dieser Verbindungen und Schwermetallion-Komplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.

4. Verbindungen der Formel (I) gemäss Anspruch 1 oder 2, worin  $R^1$  für freies Hydroxy, Niederalkoxy, Niederalkanoyloxy oder für jeweils unsubstituiertes oder durch Halogen, Niederalkyl oder Niederalkoxy substituiertes Phenylloxy oder Benzylloxy steht, und worin  $R^2$  Wasserstoff, Niederalkyl oder einen Phenyl- oder Phenylniederalkylrest bedeutet, und Salze dieser Verbindungen und Schwermetallion-Komplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.

5. Verbindungen der Formel (I) gemäss Anspruch 1, worin  $R^1$  für freies Hydroxy oder Niederalkoxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder Niederalkyl und  $R^3$  für Methyl stehen, und Salze dieser Verbindungen sowie Eisenion-Komplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.

6. Verbindungen der Formel I gemäss Anspruch 1, worin  $R^1$  für Hydroxy oder Methoxy,  $R^2$  für Wasserstoff oder Methyl und  $R^3$  für Wasserstoff oder Methyl stehen, sowie deren Salze.

7. Verbindungen der Formel (I) gemäss einem der Ansprüche 1-4 und 6, worin  $R^2$  für Wasserstoff steht, und deren Salze.

8. Verbindungen der Formel (I) gemäss einem der Ansprüche 2, 4 und 6-7, worin  $R^3$  für Methyl steht, und deren Salze.

9. Verbindungen der Formel (I) gemäss einem der Ansprüche 1, 3 und 5, worin  $R^3$  für Methyl steht, und Salze dieser Verbindungen und die in den Ansprüchen 1, 3 oder 5 genannten Metallkomplexe solcher Verbindungen mit freier 4-Carboxy-Gruppe.
10. Verbindungen der Formel (I) gemäss einem der Ansprüche 1-4 und 6-7, worin  $R^3$  für Wasserstoff steht, und deren Salze.
11. Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, nämlich 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure.
12. Eine Verbindung gemäss Anspruch 11, nämlich die nach dem mikrobiologischen Verfahren erhaltene optisch aktive Form.
13. Verbindungen gemäss Anspruch 1, nämlich Salze und der Eisen(III)-komplex (Ferrithiocin) der 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäure.
14. Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, nämlich 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäuremethylester.
15. Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, nämlich 2-(3'-Methoxy-pyrid-2'-yl)-4-methyl-2-thiazolin-4-carbonsäuremethylester.
16. Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, nämlich 2-(3'-Hydroxy-pyrid-2'-yl)-2-thiazolin-4-carbonsäure.
17. Pharmazeutische Präparate, die eine Verbindung gemäss einem der Ansprüche 1-16 zusammen mit einem pharmazeutisch verwendbaren Trägermaterial enthalten.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**